

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

2. LÉKAŘSKÁ FAKULTA

Katedra preventivní medicíny

Jana Čepová

**Preventivní a diagnostické metody u
civilizačních chorob – význam suplementace
vitaminem D**

Disertační práce

Praha 2010

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval/a samostatně a že jsem uvedl/a všechny použité informační zdroje. Současně dávám svolení k tomu, aby tato závěrečná práce byla archivována v Ústavu vědeckých informací 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a zde užívána ke studijním účelům. Za předpokladu, že každý, kdo tuto práci použije pro svou přednáškovou nebo publikační aktivitu, se zavazuje, že bude tento zdroj informací řádně citovat.

Souhlasím se zpřístupněním elektronické verze mé práce v Digitálním repozitáři Univerzity Karlovy v Praze (<http://repozitar.cuni.cz>). Práce je zpřístupněna pouze v rámci Univerzity Karlovy v Praze

Souhlasím

V Praze, 28.6.2010

MUDr. Jana Čepová, MBA

Podpis

Poděkování:

Na tomto místě bych ráda poděkovala svému školiteli, doc. MUDr. K. Dohnalovi, CSc. a Ing. Martě Pechové za odborné vedení disertační práce. Také děkuji kolegyním a kolegům z Ústavu klinické biochemie a patobiochemie 2.LF a FN Motol za podporu v průběhu celého studia.

Anotace

Jednou z nejčastějších civilizačních chorob současnosti je osteoporóza. Na jejím vzniku se podílí i nedostatečná suplementace vitamínem D.

Cílem mé práce bylo sledování hladiny vitamínu D nejprve u zdravé populace. Dalším krokem bylo sledování již léčených pacientů.

Přes doporučenou, dostatečnou suplementaci vitamínem D jsem prokázala deficit vitamínu D i u již léčených pacientů.

Deficit vitamínu D se stává pravděpodobně větším problémem, než si myslíme. A proto je třeba zvýšit důraz na dostatečnou suplementaci tímto vitamínem pro celou populaci.

Annotation

Osteoporosis belongs between the most common civilization diseases. Insufficient vitamin D supplementation attributes to pathogenesis of the illness.

Aim of the study was vitamin D levels monitoring in both healthy population and vitamin D treated patients.

I have proved deficit of vitamin D at these patients, over recommended dosage of vitamin D. Vitamin D deficiency starts to be probably more serious problem than ever before. Therefore is necessary to focus on sufficient supplementation of this vitamin as well as a further education through all population.

Obsah

PROHLÁŠENÍ:	2
1. OSTEOPORÓZA	8
1.1 HISTORIE OSTEOPORÓZY	11
1.2 EPIDEMIOLOGIE OSTEOPORÓZY	12
1.2.1 Všeobecná statistická data	12
1.2.2 Fraktury proximálního femuru.....	12
1.2.3 Fraktury obratlů.....	13
1.2.4 Statistická data v Evropě.....	13
1.2.5 Statistická data v USA.....	14
1.2.6 Statistická data v Latinské Americe.....	14
1.2.7 Statistická data v Oceánii.....	15
1.2.8 Statistická data v České republice.....	15
1.3 ETIOPATOGENEZE OSTEOPORÓZY	16
1.3.1 Etiologie	16
1.3.2 Patogeneze.....	17
1.3.3 Základní patogenetické mechanismy	17
1.4 KLASIFIKACE A KLINICKÉ DĚLENÍ OSTEOPORÓZY	18
1.5 LIDSKÝ SKELET	19
1.5.1 Funkce a vlastnosti kostí.....	19
1.5.2 Kostní buňky.....	20
1.5.3 Regulace kostní remodelace	21
1.6 RIZIKOVÉ FAKTORY OSTEOPORÓZY	23
1.6.1 Hlavní a vedlejší rizikové faktory osteoporózy	24
1.7. PROJEVY OSTEOPORÓZY	27
1.8 DIAGNOSTIKA OSTEOPORÓZY	28
1.8.1 Rentgenové vyšetření	28
1.8.2 Metody založené na absorpciometrii	28
1.8.3 Kvantitativní výpočetní tomografie.....	30
1.8.4 Základní biochemická vyšetření	30
1.8.4.1 Markery kostní resorpce	32
1.8.4.2 Markery kostní novotvorby	35
1.9 LÉČBA OSTEOPORÓZY	36
1.10 PREVENCE	40
2 VITAMIN D	41
2.1 HISTORIE	41
2.2 METABOLISMUS VITAMINU D	42
2.3 ÚČINKY VITAMINU D	45
2.4 CHOROBY SPOJENÉ S NEDOSTATKEM VITAMINU D	47
2.5 DOPORUČENÝ PŘÍJEM VITAMINU D V POPULACI	48
2.6 LÉKOVÉ INTERAKCE	51
2.7 INTOXIKACE VITAMÍNEM D.....	52
2.8 FORTIFIKACE POTRAVIN	53
3 HYPOTÉZY A CÍLE PRÁCE	54
3.1 OPTIMÁLNÍ LABORATORNÍ VYŠETŘOVACÍ METODA	54
3.1.1 Stanovení 25-OH vitamínu D ELISA soupravou	54
3.1.2 Stanovení 25-OH vitamínu D vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC).....	54
3.1.3 Stanovení 25-OH vitamínu D na analyzátoru Cobas e411	57
3.1 STUDIE 2008.....	59
3.2 STUDIE 2009.....	59
4 MATERIÁL A METODY	60
4.1 ANALYTICKÉ METODY	60
4.1.2 Analytická metoda na stanovení 25-OH vitamínu D ₃ ELISA soupravou.....	60

4.1.3	<i>Analytická metoda na stanovení 25-OH vitamínu D₃ pomocí HPLC</i>	62
4.1.4	<i>Analytická metoda stanovení 25-OH vitamínu D₃ na analyzátoru Cobas e441</i>	65
4.1.4	<i>Závěrečný komentář k optimální analýze vitamínu D</i>	66
4.2	STUDIE 2008	68
4.2.2	<i>Materiál</i>	68
4.2.3	<i>Metoda</i>	68
4.2.4	<i>Měření</i>	69
4.3	STUDIE 2009	72
4.3.2	<i>Materiál</i>	72
4.3.2	<i>Metoda</i>	72
4.3.3	<i>Měření</i>	72
5	VÝSLEDKY	77
5.1	VÝSLEDKY STUDIE 2008.....	77
5.2	VÝSLEDKY STUDIE 2009.....	86
6	DISKUSE	99
7	ZÁVĚR	101
8	POUŽITÁ LITERATURA	102
9	SEZNAM PŘÍLOH	116
11	SEZNAM TABULEK, OBRÁZKŮ A GRAFŮ	119
11.1	OBRÁZKY.....	119
11.2	TABULKY.....	119
11.3	GRAFY.....	121
12	PUBLIKAČNÍ AKTIVITA	122
12.1	MONOGRAFIE A KAPITOLY V MONOGRAFIÍCH.....	122
12.2	ČLÁNKY V ODBORNÝCH ČASOPISECH.....	122
12.3	ABSTRAKTA V ČASOPISECH, SBORNÍCÍCH (A SUPLEMENTECH).....	124
12.4	JINÉ PUBLIKACE.....	129
12.5	PŘEDNÁŠKOVÁ ČINNOST.....	129
12.6	OSTATNÍ.....	131

Úvod

Téma své diplomové práce jsem si vybrala na základě dlouholetého zájmu o problematiku civilizačních chorob a o péči pacientů s těmito chorobami. Je to skupina onemocnění, které jsou spojeny s životním stylem moderní doby. Hlavními příčinami vzniku těchto chorob jsou příjem kaloricky bohatých potravin, tedy nevyváženost stravy na straně jedné a významný úbytek fyzického pohybu na straně druhé. K tomu všemu přispívá zvýšený stres, nadměrná konzumace alkoholu a kouření.

Všechny tyto choroby se navzájem prolínají, takže řada pacientů trpí několika civilizačními chorobami zároveň.

Jednou z nejzávažnějších chorob se stává osteoporóza a s ní spojené následky. Toto onemocnění se nazývá civilizační chorobou 3. tisíciletí.

Léčba této choroby je dlouhodobá, respektive celoživotní. Důležitou roli v léčbě této choroby zaujímá prevence. A na tuto oblast jsem se zaměřila. Jedním ze základních léčebných pilířů je dostatečná suplementace vitamínem D u lidí ohrožených osteoporózou nebo osteopénií. A tento vitamin hraje velmi důležitou roli i u výše zmíněných civilizačních chorob.

1. Osteoporóza

Osteoporóza je progresivní systémové onemocnění skeletu charakterizované úbytkem kostní hmoty a poruchami mikroarchitektury kostní tkáně s následným zvýšením fragility kostí a zvýšením sklonu ke zlomeninám (WHO Technical Report Series 843, 1994) (13,149).

Osteoporóza je podle současné definice systémovým metabolickým onemocněním skeletu, charakterizovaným poruchou mechanické odolnosti kosti a v důsledku toho zvýšeným rizikem zlomenin. Mechanická odolnost kosti je podmíněna kvantitou a kvalitou kostního minerálu a organické matrix, mikroarchitekturou a makroarchitekturou kosti a dalšími aspekty kvality kostní hmoty (18,19,95,149).

V současné době je jediným klinicky použitelným indexem kvality kosti nízkotraumatická zlomenina v anamnéze. WHO (World Health Organisation) definuje zlomeninu ze zvýšené lomivosti jako „zlomeninu způsobenou poraněním, které by nepostačovalo ke zlomení normální kosti, v důsledku snížené tlakové a/nebo torzní pevnosti kosti“. Z klinického hlediska je možné zlomeninu ze zvýšené lomivosti definovat jako takovou zlomeninu, ke které dojde v důsledku minimálního traumatu.

Měření kostní hmoty však neposkytuje žádnou informaci o etiologii snížení kostní hustoty. Ke stanovení diagnózy, s cílem vyloučit možné sekundární příčiny, jsou dále zapotřebí biochemická vyšetření, vyšetření markerů kostní formace, kostní resorpce a některých hormonů.

Kvantitativním kritériem stupně úbytku kostní hmoty je obsah kostního minerálu. Pro interpretaci výsledků kostní minerální denzity (BMD) byla přijata definice studijní skupiny WHO, založená na porovnání zjištěné BMD s průměrnou hodnotou u mladší dospělé populace stejného pohlaví a etnické příslušnosti. U pacienta je stanoveno tzv. T- skóre, což je velikost standardních odchylek (SD) nad nebo pod průměrnou hodnotou BMD u zdravých mladších dospělých.

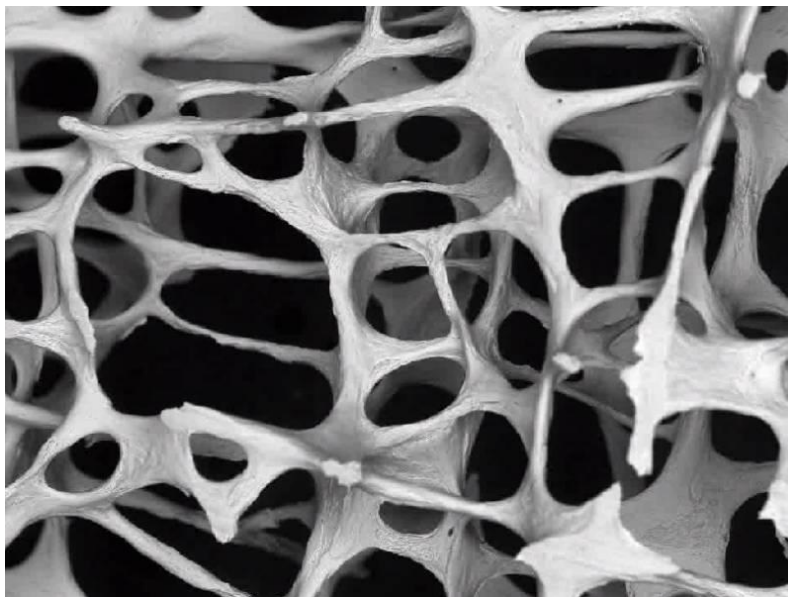
Normální BMD je definována jako T-skóre v rozsahu hodnot nižších než +2,5 a vyšších než -1,0 SD (tzn. BMD pacienta je mezi 2,5 SD nad průměrem mladších zdravých dospělých a jednou SD pod průměrem mladších zdravých dospělých).

Osteopenie je definována jako T-skóre v rozmezí -1,0 až -2,5 SD včetně. Termín osteopenie používají radiologové k označení toho, že u kostí na RTG snímku se zdá být snížen minerální obsah (obr.č.1,obr.č.2). (78)

Osteoporóza se definuje jako T-skóre nižší než -2,5 SD.

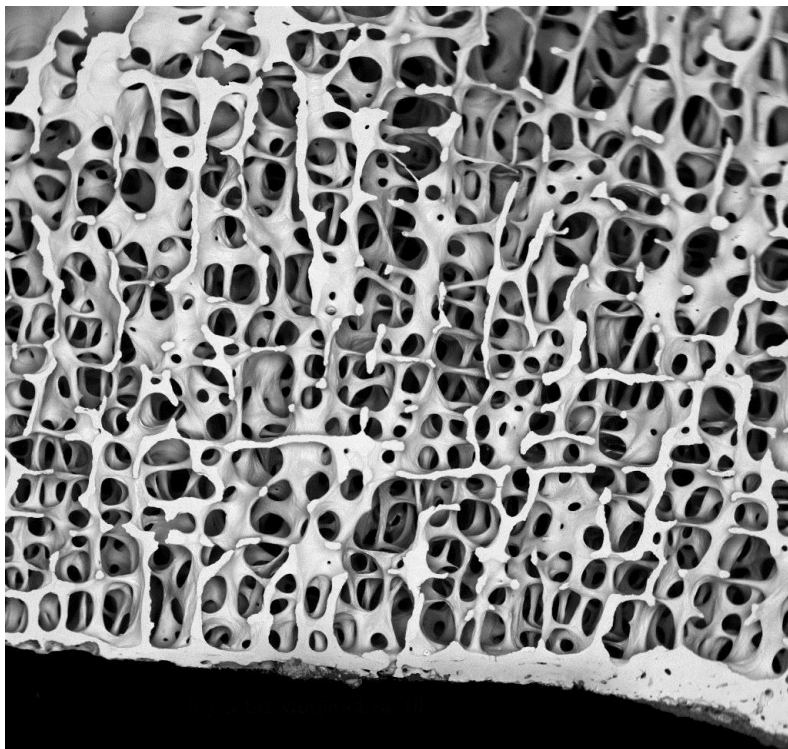
Později byla ještě definována čtvrtá kategorie – tzv. těžká osteoporóza, kdy bylo u pacientů stanoveno T-skóre nižší než $-2,5$ SD a již utrpěli zlomeninu ze zvýšené lomivosti (5).

Významným a dosud nedořešeným omezením kritérií WHO zůstávají rozdíly mezi poklesem BMD v závislosti na věku při užití různých vyšetřovacích technik, při měření na různých místech skeletu, jakož i interpretace nálezů u dětí a mužů. Výše uvedená definice byla ověřena pouze u postmenopauzálních žen bílé pleti, kterým byla BMD měřena pomocí dvouenergiové absorpciometrie (DXA) v bederní páteři při předozadní projekci, v proximálním femuru a případně v celém distálním předloktí. Uvedená kritéria nelze tedy použít pro interpretaci denzitometrického vyšetření u mužů, u žen před menopauzou, u dětí a u jiných etnik než u bělochů. Stejně tak kritéria WHO nelze užít pro interpretaci výsledků měření jiných míst skeletu (patní kost, články prstů). (34,149)



Obr. č. 1 – osteoporotická kost

www.gate2biotech.cz/genova-terapie-civilizacnich-chorob (152)



Obr. č. 2 – zdravá kost

www.gate2biotech.cz/genova-terapie-civilizacnich-chorob (152)

1.1 Historie osteoporózy

Osteoporóza (OP) je velmi staré onemocnění. Na některých starých čínských a řeckých malbách jsou znázorněny ženy s typickým tvarem osteoporotické hrudní hyperkyfózy. Smrčka a spol. z Brna (1989) zjistili předčasnou osteoporózu na kostrách mladých žen z 3. - 5. století n.l. z pohřebiště Wadu Quitna v Egyptě a jako možnou příčinu uvádějí příjem chleba s vyšším obsahem fyátů, ale i úbytek kostního minerálu při parazitárních chorobách. Osteoporóza se zjistila i na kostrách severoamerických Indiánů z období 2500 – 2000 př. n. l.

Prořídnutí kosti bylo jasněji definováno až koncem 19. století, kdy Pommer v roce 1885 rozlišil osteoporózu od osteomalacie. Začátkem 20. století byl znám pojem senilní osteoporóza.

Zásadní pokrok v osteologii nastal po druhé světové válce, kdy byla vydána monografie Albrighta a Reifensteina *The Parathyreoid Gland and Metabolic Bone Disease.*(6,13)

1.2 Epidemiologie osteoporózy

1.2.1 Všeobecná statistická data

Osteoporóza se stala velmi závažným zdravotnickým problémem. Podle statisticky dostupných dat International Osteoporosis Foundation (IOF) je osteoporózou postiženo 75 miliónů lidí v Evropě, USA a Japonsku (37,91). V roce 2000 byl očekávaný předpoklad nově vzniklých osteoporotických fraktur 9 miliónů. Z toho 1,6 miliónu se týkalo zlomenin proximálního femuru, 1,7 miliónu bylo zlomenin předloktí a 1,4 miliónu byly klinické fraktury obratlů (150,163).

Jedna ze tří žen po 50. roce věku má vlastní zkušenost s osteoporotickou frakturou, v případě mužů je tento poměr jedna ku pěti. Celkově 61 % osteoporotických fraktur se stane ženám, a sice 80 % ze všech fraktur předloktí, 75 % z fraktur pažní kosti, 70 % z fraktur krčku femuru a 58 % ze všech fraktur obratlů.

1.2.2 Fraktury proximálního femuru

7 % zlomenin proximálního femuru, distálního předloktí a páteře se stává lidem starším 65 let. Nejvyšší počet nově vzniklých fraktur proximálního femuru je v období 75 – 79 let věku a platí to pro obě pohlaví stejně. Peak vzniku všech ostatních fraktur je mezi 50. - 59. rokem věku, poté se počet nově vzniklých fraktur s věkem snižuje.

20 – 25 % osteoporotických fraktur proximálního femuru se týká mužů. Celková mortalita tohoto onemocnění je v prvním roce 20 % a je vyšší u mužů než u žen (90).

Ačkoliv prevalence osteoporotických fraktur je vyšší u žen než u mužů, tak u mužů je vyšší mortalita na následky tohoto onemocnění.

Zlomenina předloktí je časný a senzitivní marker mužské kostní fragility.

Přibližně 1,6 miliónu fraktur proximálního femuru vznikne každoročně nově. V roce 2050 se předpokládá, že počet těchto fraktur bude mezi 4,5 a 6,3 milióny.

5-10 % pacientů má zkušenosti s opakovanými frakturami proximálního femuru, interval mezi první a druhou frakturou proximálního femuru bývá 3,3 roku.

Nejvyšší riziko vzniku fraktury proximálního femuru zdá se být v Norsku, Švédsku, Islandu, Dánsku a USA.

1.2.3 Fraktury obratlů

Padesátiletá bílá žena má 16 % pravděpodobnost, že utrpí jednou za život frakturu obratlového těla. Pravděpodobnost těžé fraktury pro muže bílé pleti pak činí 5 %. 65letá žena s jednou vertebrální frakturou má 25 % pravděpodobnost pro vznik další fraktury během 5 let, kterou je možno zredukovat na 1/8 v případě léčby.

Vertebrální fraktury jsou spojeny se zvýšeným rizikem vzniku dalších vertebrálních i nevertebrálních fraktur.

Odhaduje se, že 1/3 vertebrálních fraktur nemá klinické příznaky.

1.2.4 Statistická data v Evropě

V roce 2000 se odhadoval počet nově vzniklých fraktur na 4 milióny, každou minutu vzniklo 8 nových fraktur nebo-li nová fraktura vznikla každých osm sekund. Z tohoto počtu bylo 0,89 miliónu fraktur proximálního femuru (124,150).

Celkové náklady na léčbu byly odhadnuty na 31,7 miliard Euro, zatímco pro rok 2050 se počítá se zvýšením nákladů na léčbu, a sice na 76,7 miliard Euro.

Odhaduje se, že v Evropě utrpí každoročně frakturu proximálního femuru 611 000 žen a 179 000 mužů. Náklady na roční léčbu osteoporotických fraktur jsou pravděpodobně 25 miliard Euro.

Dánsko: odhadovaná prevalence osteoporózy u osob padesáti a víceletých je pro ženy 41 %, pro muže 18 %.

Francie: V roce 2001 bylo registrováno 118 839 fraktur, z toho 61 % se týkalo fraktur proximálního femuru, 28 % bylo fraktur předloktí a 11 % se týkalo proximálního femuru.

Belgie: roční výdaje na léčbu osteoporotických fraktur jsou okolo 150 miliónů Euro.

Španělsko: přibližně 2 milióny španělských žen má osteoporózu. Každoročně vznikne 25000 nových fraktur, celkové náklady na léčbu osteoporózy dosahují více než 126 miliónů Eur, přičemž další následná léčba dosahuje 420 miliónů Euro.

Švýcarsko: v roce 2000 bylo hospitalizováno 62 535 pacientů s následky fraktur, 57 % žen a 43 % mužů. Z toho 51 % ze všech fraktur u žen byly fraktury osteoporotické, u mužů bylo spojeno s osteoporózou 24 % všech fraktur.

Předpokládá se nárůst vzniku fraktur proximálního femuru, a sice ze 46 000 v roce 1985 na 117 000 v roce 2016.

1.2.5 Statistická data v USA

V USA má 54 % postmenopauzálních bílých žen osteopénii a 30 mají definovanou osteoporózu. Ve věku 80 let má 27 % žen osteopénii a 70 % trpí osteoporózou.

Pro rok 2020 se očekává zvýšení osteoporózy na 14 miliónů případů, přes 47 miliónů případů bude mít ztrátu kostní hmoty (27).

Pro rok 2025 se očekávají výdaje na léčbu osteoporózy na 25 miliard dolarů (150).

1.2.6 Statistická data v Latinské Americe

Počet fraktur proximálního femuru v roce 2050 pro muže a ženy ve věku 50 – 54 let se zvýší o 400 %. Pro věkovou skupinu starší než 65 let je vzrůst tohoto onemocnění ohromujících 700 %.

Odhaduje se, že obyvatelé Latinské Ameriky utrpí v roce 2050 pravděpodobně 655 648 fraktur proximálního femuru. A celkové náklady se vyšplhají na 13 miliard dolarů (105,150).

Brazílie: 10 miliónů lidí, tedy zhruba každý 17. má osteoporózu. Celoživotní prevalence vzniku fraktury byla nalezena u 37,5 % mužů a 21 % žen, přičemž v závislosti na barvě pleti je rozdělení následující – bílá rasa 29 %, míšenci 31 % a černá rasa 22 %.

Odhaduje se, že 1 z 3 pacientů s frakturou proximálního femuru je diagnostikován jako pacient s osteoporózou. A jen jeden z pěti těchto pacientů je léčen.

Mexiko: jeden z každých čtyř lidí má osteopénii nebo osteoporózu.

Venezuela: v roce 1995 bylo diagnostikováno 9,6 fraktur proximálního femuru denně. Pro rok 2030 se odhaduje, že těchto fraktur bude 67 denně. Z těchto lidí, kteří utrpí tuto frakturu, zemře 17 % do čtyř měsíců po fraktuře. Klinické studie uvádí, že jen 10 % populace ve věku nad 70 let má normální denzitu kostní tkáně.

1.2.7 Statistická data v Oceánii

Austrálie: 2,2 miliónu Australanů byla prokázána osteoporóza. Okolo 11 % mužů a 27 % žen ve věku 60 let a více má osteoporózu, 42 % mužů a 51 % žen pak má prokázanou osteopénii (122,150).

Pravděpodobnost vzniku osteoporotické fraktury pro lidi nad 50let věku je 42 % u žen a 27 % u mužů.

Každoročně vznikne 20 000 nových fraktur proximálního femuru.

Náklady na léčbu se pohybují okolo 7,4 miliard dolarů na rok, přičemž přímé náklady činí 1,9 miliard dolarů.

Nový Zéland: pro rok 2007 bylo odhadnuto 84 000 nově vzniklých osteoporotických fraktur, z 60 % tuto frakturu utrpěly ženy.

Náklady na léčbu činí okolo 1,15 miliard dolarů na rok.(5)

Podobná data platí i pro obyvatele Asie.

1.2.8 Statistická data v České republice

Výskyt onemocnění v České republice se pouze odhaduje na základě údajů Ústavu zdravotnických informací a statistiky ČR (ÚZIS). Podle těchto údajů bylo v roce 1986 hospitalizováno pro zlomeninu proximálního femuru 8 043 nemocných, z toho 2 652 mužů a 5 391 žen.

V roce 1999 bylo nemocných 17 708, přičemž bylo 12 361 žen a 5 347 mužů.

V roce 2008 to bylo již 21 617 nemocných, z toho bylo 15 233 žen a 6 384 mužů (příloha č.1,2,3).

Statistickou pravděpodobnost prodělat do konce svého života některou z typických zlomenin (distálního předloktí, obratlů a proximálního femuru) má ve svých 50 letech každá třetí žena a každý šestý muž.

Osteoporóza u nás postihuje asi 700 tisíc obyvatel. Na následky fraktur proximálního femuru umírá asi 1/3 pacientů do jednoho roku. Mnoho dalších je invalidizováno a trvale odkázáno na pomoc rodiny či na zařízení pro pacienty s dlouhodobou péčí. Podle demografických prognóz se má počet osteoporotických zlomenin neustále zvyšovat.

1.3 Etiopatogeneze osteoporózy

Etiopatogeneze tohoto onemocnění není jednotná.

1.3.1 Etiologie

Názory na etiologii prošly častými změnami.

Protein – matrixová teorie (Albright a Raifenstein, 1948)

Kolagenní vlákna kosti podléhají během kostní přestavby hormonálním vlivům. Anabolické hormony (androgeny, estrogeny) brání odbourávání kostní matrix, zatímco katabolické hormony (glukokortikoidy) stupňují odbourávání matrix. Po menopauze dochází u žen k poklesu anabolických hormonů o 80 %, u mužů při tzv. andropauze maximálně o 50 %. Produkce glukokortikoidů klesá jen o 10 %. Snížení estrogenů má za následek snížení kostní novotvorby, a to vede k nerovnováze mezi novotvorbou a odbouráváním skeletu.(149)

Význam kostní hmoty vytvořené v mládí (Rose)

Tato teorie předpokládá, že u osteoporotiků došlo v mládí k založení podstatně menšího množství kostní hmoty, takže jejich skelet dosáhl dříve hranic statického zatížení. Tato teorie nabývá významu i v souvislosti s omezením pohybové aktivity u dospívajících, konzumací nápojů s vysokým obsahem fosfátů, zvyšováním počtu alergiků a chronicky nemocných i předčasně narozených.(149)

Biostatická teorie (Krokowski, 1981)

Úbytkem svalové síly, závislým na věku a civilizací podmíněnou menší zátěží, dochází k ochabnutí posturálních svalů. To způsobuje změněné držení těla, zvětšenou hrudní kyfózu a bederní lordózu a přesun části tělesné hmotnosti ze svalů na obratlová těla, která jsou více zatěžována v podélném směru. Obratel se snaží v bederním úseku adaptovat změnou svého tvaru na rybí obratel. (149)

1.3.2 Patogeneze

Osteoporóza vzniká tehdy, když je resorpce kosti vyšší než kostní novotvorba. Oba tyto, za normálních okolností fyziologické děje, jsou především závislé na věku člověka a na aktuálním fyzickém stavu.

Existuje pět možností vzniku nerovnováhy:

1. Zvýšená novotvorba kosti při ještě více zvýšené kostní resorpci.
2. Zvýšená kostní resorpce při fyziologické novotvorbě kosti.
3. Snížená novotvorba kosti při fyziologické kostní resorpci.
4. Snížená novotvorba kosti při současné zvýšené kostní resorpci.
5. Silně snížená kostní novotvorba při jenom mírně snížené kostní resorpci.

Vlastní zvýšená lomivost kosti může být následkem:

- selhání mechanismu dosažení optimální pevnosti a objemu kosti při vývoji a růstu skeletu
- zvýšené kostní resorpce snižující kostní objem a zhoršující stav mikrostruktury kosti
- nedostatečné novotvorby kosti při zvýšené kostní resorpci (18,38,74,149)

1.3.3 Základní patogenetické mechanismy

Vlastní zvýšená lomivost kosti může být následkem:

- a) selhání mechanismu dosažení optimální pevnosti a objemu kosti při vývoji a růstu skeletu
- b) zvýšené kostní resorpce snižující kostní objem a zhoršující stav mikrostruktury kosti
- c) nedostatečné novotvorby kosti při zvýšené kostní resorpci. (149)

Na výskytu zlomenin se podílí nejen zvýšená lomivost kostí, ale též intenzita pádu, síla a frekvence.

1.4 Klasifikace a klinické dělení osteoporózy

Osteoporóza se může projevit v generalizované formě, kdy postihuje celý skelet nebo v lokalizované formě, kdy jsou postiženy určité ohraničené oblasti kosti. Při generalizované osteoporóze nejsou všechny oblasti skeletu postiženy rovnoměrně. Rozdíly v jednotlivých lokalizacích vyplývají z různého zastoupení trabekulární a kortikální kosti. U primární osteoporózy je zpravidla postižen osový skelet, což je vysvětlováno rozdílným průběhem kostní přestavby na periostálním, intrakortikálním a endosteálním povrchu kosti(18).

Sekundární osteoporóza je etiologicky podmíněna různými základními onemocněními, na rozdíl od tzv. idiopatické osteoporózy, kde je etiologie neznámá. Klinická klasifikace osteoporózy je v současnosti stanovena podle rozsahu a příčiny skeletálních afekcí. Dělení v současné klinické praxi vypadá takto (132,149)

I. Generalizovaná osteoporóza

a) primární

1. juvenilní idiopatická
2. postmenopauzální
3. senilní (involuční)

b) sekundární

1. endokrinní
2. gastrointestinální
3. nutriční
4. renální
5. genetická
6. iatrogenní a farmakogenní
7. imobilizační

II. Lokalizovaná osteoporóza

a) primární

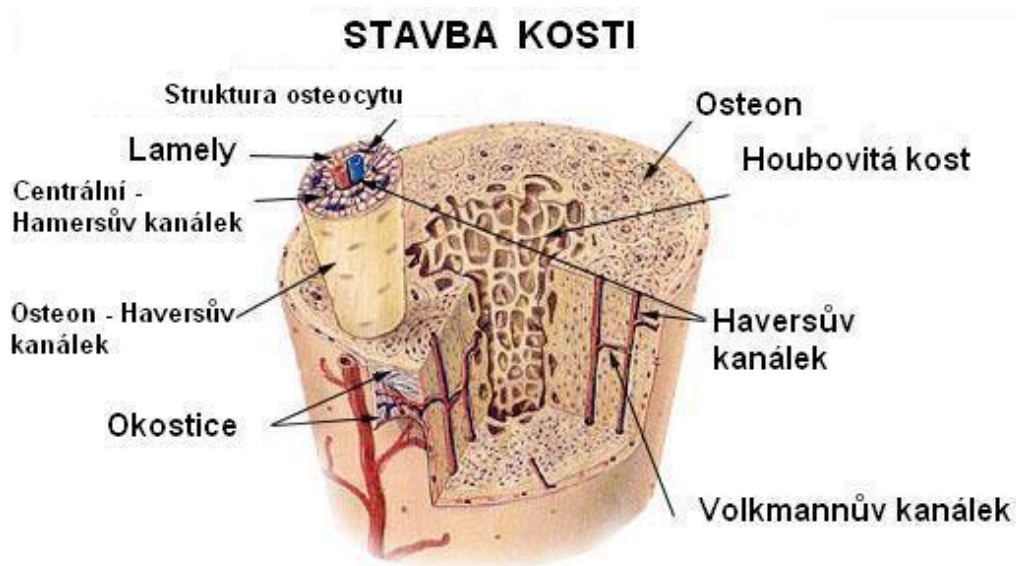
b) sekundární

1. imobilizační
2. Sudeckův syndrom
3. u zánětlivých revmatických onemocnění
4. u hematologických onemocnění
5. u osteolytických kostních metastáz

1.5 Lidský skelet

Lidský skelet se sestává asi z 220 kostí a lze ho dělit do dvou skupin, a sice na axiální a periferní skelet. Axiální skelet tvoří lebka, hrudník, páteř a pánev. Periferní skelet zahrnuje kosti končetin.

Rozeznávají se dva základní typy kosti – kortikální a trabekulární. Kortikální kost tvoří zevní vrstvu dlouhých kostí, je velice hustá, obměňuje se 10x pomaleji než kost trabekulární (trámčitá, spongiózní). Naproti tomu axiální skelet má vyšší zastoupení kosti trabekulární. Spongiózní kost je více porotická, úroveň metabolismu je u této kosti je vysoká.



Obr. č. 3 – Složení trabekulární a kortikální kosti

www.bezeckaskola.cz/.../580-Vb8-stavba-kosti.jpg (153)

1.5.1 Funkce a vlastnosti kostí

Kost je živým, dynamickým orgánem. Má velmi aktivní metabolismus. Růst a vývoj skeletu končí zhruba z 90 % v pubertě, kdy se uzavírají kostní štěrby, další změny v dospělosti jsou již zanedbatelné. Během dospívání probíhá remodelace kosti, která adaptuje skelet na zátěž. Orientace trámců se mění v souvislosti se změnou orientace zátěže. S přibývajícím věkem dochází ke ztrátě elasticity a pevnosti kosti, což

může vést ke zlomeninám. Příčinou je snížení obsahu kolagenu v kosti, ztráta kostního minerálu a s tím související porucha architektiky.

Kosti jsou neustále remodelovány, což vede k mobilizaci vápníku a udržení kalciumfosfátového metabolismu. Dochází k náhradě kostní tkáně, skeletální adaptaci na různou úroveň zátěže, k reparacím poškozené kosti makroskopicky i mikroskopicky.

Skelet má tři základní funkce: slouží jako mechanická opora, je homeostatickým orgánem metabolismu minerálů, je místem hemopoézy. Minerální kostní hmota se skládá z 50 % anorganického materiálu, 25% bílkovinné matrix a z 25 % vody.(13,149)

1.5.2 Kostní buňky

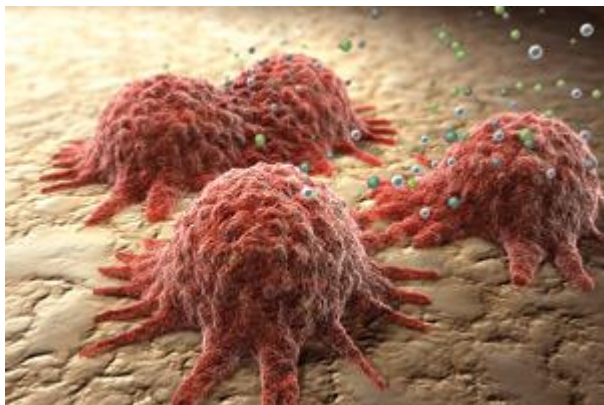
Kostní buňky, kam patří osteoklasty, osteoblasty, osteofyty a buňky endosteální vrstvy, vytvářejí specifický buněčný systém, který je odpovědný za reparaci a adaptaci kostní tkáně.

Osteoblasty (obr.č.4) jsou odvozené od mezenchymu kostní dřeně. Syntetizují specifické matrixové proteiny, jako je kolagen typu I., osteokalcin a osteopontin. Osteoblasty ukládají novou kost. Osteoblasty, jež jsou uvězněny ve vlastní matrix, se stávají osteofyty. (13,149)

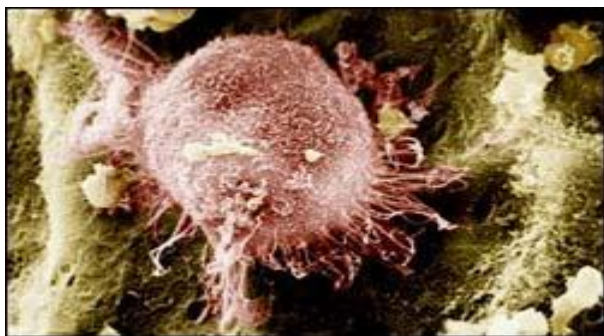
Osteoklasty (obr.č 5) jsou velké buňky obsahující 20 – 30 jader. V rostoucí kosti jsou poměrně početné, ale v dospělé kosti tvoří pouze 1 % populace kostních buněk. Mají schopnost resorbovat starou a insuficientní kostní tkáň v průběhu relativně krátké doby.

Osteocyty (příloha č. 4,5) jsou nejpočetnější skupinou buněk v kosti. Fungují jako mechanosenzory kosti a regulují kostní formaci a resorpci. Jejich apoptóza je časným projevem mikropoškození indukované přestavby kosti a následné remodelace. Osteocyty regulují proces mineralizace a udržují homeostázu fosforu prostřednictvím sekrece FGF23 (fibroblastický růstový faktor).

Buňky endosteální vrstvy překrývají 80-95 % vnitřní plochy kosti a pravděpodobně pocházejí z inaktivních osteoblastů. Vytvářejí ochrannou vrstvu a monitorovací systém společně s osteocyty a jejich kanalikuly.



Obr. č. 4 – Osteoblast - www.catalog.nucleusinc.com/nucleus/osteoblast (155)



Obr. č. 5 – Osteoklast - www.biol.pmf.hr/.../odg-slike/odg157-2.jpg (154)

1.5.3 Regulace kostní remodelace

Lidský skelet disponuje výkonným regulačním systémem fungujícím na základě zpětné vazby, který reguluje homeostázu vápníku a udržuje pevnost kosti. Pravděpodobně existuje více než 5 skupin regulačních mechanismů ovlivňujících kostní objem.

1. Systémové hormony: nejdůležitějšími hormony jsou parathyrin (PTH), kalcitonin, hormony štítné žlázy, inzulin, růstový hormon, kortizol a pohlavní hormony. Estrogeny ovlivňují především osteoklasty a tím převážně kostní resorpci. Parathormon s vitamínem D jsou hlavními regulátory kalciumfosfátového metabolismu. Androgeny jsou důležité při novotvorbě kosti.

- 2. Cytokiny a signální faktory:** kostní buňky produkují několik skupin cytokinů, například IGF-1, IGF-2- β_2 - mikroglobulin (inzulinu podobný růstový faktor IL- β_2 - mikroglobulin), IL-1, IL-6, TGF- β , BMP (kostní morfogenetický protein), FGFs (fibroblastové růstové faktory) a PDGF (destičkový růstový faktor). Prostaglandiny hrají důležitou roli v kostní resorpci během imobilizace. Osteoprotegerin blokuje diferenciaci prekursorů osteoklastů a pozastavuje tak resorpci. Osteoprotegerin v podstatě reprezentuje propojení mezi arteriální kalcifikací a kostní resorpcí (tím se potvrdil společný původ kardiovaskulárních chorob a osteoporózy, neboť se v obou případech jedná o choroby postihující především postmenopauzální ženy a starší populaci obecně).
- 3. Vitaminy a minerály:** vitaminy D, K, C, B₆ a A jsou potřebné pro metabolismus kolagenu a mineralizaci osteoidu.
- 4. Mechanická zátěž:** cvičení může zlepšit kostní objem a pevnost kosti u dětí a adolescentů. Potenciál osteogeneze mizí na konci puberty a s ním i růst kosti do délky.
- 5. Transkripční regulace a geny:** transkripční geny řídící osteogenezi a diferenciaci osteoblastů- transkripční faktor 2 (Runx2), osterix (OSX) a pohlavně determinovaný lokus Y-box 9 (Sox9). LRP-5 (lipoprotein podobný proteinu 5) ovlivňuje transkripční faktor β -katenin, který zvyšuje kostní formaci. LRP-5 byla prokázána klíčová úloha v regulaci osteoplastické diferenciaci.(149)

1.6. Rizikové faktory osteoporózy

Tak, jak celá řada civilizačních chorob má společného jmenovatele, tak je řada onemocnění spojena se zvýšeným rizikem vzniku osteoporózy. Mnohá jsou identifikovatelná již z anamnézy či fyzikálního vyšetření.

Při diagnostice osteoporózy se používá stanovení kostní minerální denzity (BMD) a využívá se tzv. T-skóre. Avšak měření kostního minerálu vztažené k průměrné očekávané hodnotě v určitém věku může být vyjádřeno ve věkově specifických standardních odchylkách označovaných jako Z-skóre. Jednotlivcům se snížením o jednu směrodatnou odchylku (Z-skóre -1) hrozí přibližně 2krát větší riziko zlomenin ve zbytku života než ostatním s průměrnou hodnotou kostního minerálu adekvátní jejich věku. Jedinci se Z-skóre -2,5 mají 4krát větší riziko zlomenin. Takové nálezy BMD vyžadují následná dodatečná vyšetření k objasnění možných příčin.(47,108,123,149)

Pacienti, kteří utrpěli v jakémkoli místě jednu nebo více zlomenin z důvodu zvýšené lomivosti, mají zvýšené riziko následných zlomenin nezávisle na BMD. Taktéž nízký věk při první zlomenině a větší počet dříve vzniklých zlomenin zvyšují následné riziko. Je třeba pátrat po předchozích frakturách, zjišťovat mechanismus dané zlomeniny. Následující tabulka (tab. č.1) ukazuje na jednotlivé případy, kdy je větší riziko vzniku osteoporózy.

Extrémně nízká porodní hmotnost, nedonošenci s porodní hmotností do 500 g
Snížená pohybová aktivita – astma bronchiale, revmatoidní artritida
Zlomeniny bez adekvátního traumatu po 45. roce života
Menopauza před 45. rokem
Oligomenorea, amenorea
Nadměrná výška - nad 180 cm
Nízké BMI pod 18, resp. hmotnost < 57 kg u žen, anorexia nervosa,
Primární hyperparathyreóza
Dlouhodobě neléčená hyperthyreóza
Nedostatečný příjem vápníku, nesnášenlivost mléka, mléčných výrobků
Abúzus alkoholu, nikotinismus
Hyperprolaktinémie
Hypogonadismus
Léčba kortikoidy trvající déle než 3 měsíce dávkou vyšší než ekvivalent 5 mg prednisonu
Antiepileptická léčba
Psychiatrická léčba
Hyperkortisolismus a hypokortisolismus
Mnohočetný myelom
Systémová mastocytóza
Systémová zánětlivá onemocnění
Malabsorpční syndromy – Crohn, sprue, gastrektomie
Transplantace orgánů

Tab.č.1 - Přehled diagnóz a anamnestických dat se zvýšeným rizikem vzniku osteoporózy (149)

1.6.1 Hlavní a vedlejší rizikové faktory osteoporózy

Rizikovým faktorem zcela nezávislým na kostním minerálu je délka krčku femuru. U žen platí přímá úměra mezi jeho délkou a rizikem zlomeniny kyčle (24,25,157).

Další příklady rizikových faktorů nezávislých na BMD jsou nadměrná ztráta tělesné hmotnosti, imobilizace, chronická onemocnění gastrointestinálního traktu, ledvin,

endokrinologická onemocnění či užívání léčiv, která zvyšují odbourávání kostní hmoty nebo narušují koordinaci, a tím zvyšují riziko pádů.

Osteoporóza na kterémkoliv místě skeletu znamená zvýšené riziko zlomenin a opravňuje k léčbě, zvláště jsou-li přítomny další rizikové faktory (31). Zlomeniny bývají často spojeny s pády, do hodnocení rizika by se měla zahrnovat i anamnéza pádů nebo faktorů zvyšujících riziko pádu. K rizikovým faktorům patří snížená svalová síla (neschopnost vstát ze židle bez pomoci), narušená rovnováha. Snížená zraková ostrost či porucha sluchu riziko pádu rovněž zvyšují.

Některé relativně běžné nemoci jako thyreotoxikosa nebo deficiencie vitamínu D se u starších lidí nemusí klinicky manifestovat a z tohoto důvodu by měly být možné příčiny vyloučeny příslušnými laboratorními testy.

Hlavní rizikové faktory	Vedlejší rizikové faktory
Věk nad 65 let	Revmatoidní artritida
Kompresivní zlomeniny obratlů	Klinická hyperthyreosa
Nízkotraumatická zlomenina po 40. roce	Chronická antikonvulzivní terapie
Osteoporotická zlomenina v rodinné anamnéze (zvláště zlomenina kyčle matky)	Nízký příjem vápníku v potravě
Systémová terapie glukokortikoidy delší než 3 měsíce	Kouření
Malabsorpční syndrom	Nadměrné pití alkoholu
Primární hyperparathyreosa	Hmotnost pod 57 kg
Náchylnost k pádům	Nadměrný příjem kofeinu
Osteopénie patrná na rtg Prokázaná atraumatická/nízkotraumatická zlomenina obratle, asymptomatická zlomenina obratle.	Úbytek hmotnosti více než 10% oproti hmotnosti ve věku 25 let
Hypogonadismus	Chronická terapie heparinem
Předčasná menopauza (před 45.r. věku)	Fyzická inaktivita.
Dlouhodobá léčba heparinem, cytostatiky, antacidy, hormony štítné žlázy v supresních dávkách, analogy GnRH.	Snížení tělesné výšky od 25 let o více než 3 cm

Tab. č. 2 - Rizikové faktory osteoporózy (149)

Rizikové faktory lze definovat jako rizikové faktory ovlivnitelné a neovlivnitelné. Řadě tzv. ovlivnitelných rizikových faktorů se dá předejít - nízká hmotnost, nikotinismus (17,54,79,106,127), nadměrná konzumace alkoholu apod. (tab. č.2)

Současné klinické studie prokazují přímý vztah mezi kouřením a sníženou kostní densitou (26,41). Kouření v jakémkoliv věku zvyšuje riziko zlomenin (44,100,110,135,162,164). U žen kuřaček vede kouření ke snížení tělesné hmotnosti a zvýšenému metabolismu estrogenů v játrech. Kuřačky odpovídají až na vyšší dávky estrogenů a mají také o 2-3 roky časnější menopauzu než nekuřačky. Ke snížení hladiny estrogenů dochází jednak přímým účinkem na syntézu estrogenu ve vaječnicích, dále snížením konverze z androgenů na periférii a konečně zvýšením katabolismu estrogenů a hladiny sexuálního globulinu (SHBG).

Jiné rizikové faktory jsou dány geneticky. Odhaduje se, že dědičnost odpovídá za 50 - 80 % variability BMD (75).

Proto je třeba určit závažnost osteoporózy a stanovit optimální léčebný přístup. Vždy by měly být hodnoceny 4 parametry:

- stanovení množství kostní hmoty
- identifikace předchozích zlomenin
- identifikace faktorů, které ovlivňují riziko zlomenin nezávisle na kostní hmotě (FRAX)
- stanovení míry ztráty kostní hmoty (126,128,149)

FRAX si klade za cíl na základě zhodnocení 10leté pravděpodobnosti kvantifikovat v dané zemi riziko vzniku zlomeniny kyčle nebo závažné osteoporotické zlomeniny za předpokladu příznivé životní prognózy pacienta v následujících letech (118). V tomto výpočtu se zohledňují tyto rizikové faktory: věk, pohlaví, hmotnost a výška, předchozí zlomenina, zlomenina kyčle v rodinné anamnéze, kouření, léčba glukokortikoidy, sekundární osteoporózy, alkohol, revmatoidní artritida.

FRAX není závislý jen na výsledku vyšetření hustoty kostního minerálu. Není součástí guidelines. Je použitelný pouze u neléčených pacientů, je zaměřen na prevenci a indikaci léčby osteopenických pacientek. Nehodí se ke sledování či monitorování léčby.(149)

1.7. Projevy osteoporózy

Osteoporóza se projevuje bolestmi zad, snížením tělesné výšky, deformitami páteře, zejména kyfózou. Pacienti mají omezenou hybnost, bolesti při delším sezení či stání, mají poruchy chůze. Pacienti trpí svalovou a kloubní slabostí. Objevuje se u nich dušnost v důsledku snížených exkurzí hrudního koše. Velmi často se objevuje deprese a únava, nejsou dostatečně soběstační (119,120,121,130).

Nejčastější klinickou manifestací osteoporózy jsou zlomeniny obratlových těl. Předpokládá se, že více než 30 % žen mladších než 75 let a 50 % žen starších než 75 let má netraumatické zlomeniny obratlových těl. Pouze 25 % těchto zlomenin je způsobeno pádem, **většina vzniká zdviháním nebo nošením předmětů.**

Tyto zlomeniny vedou ke ztrátě výšky pacientů, ztrátě hybnosti, ztrátě schopnosti starat se o sebe. **Zlomeniny obratlových těl se mohou objevit bez algického syndromu** jako náhodný nález na rentgenovém snímku. Do první zlomeniny bývají pacienti s osteoporózou často zcela bez potíží.(1)

Nejobvyklejší místa, kde dochází ke zlomeninám, jsou obratlová těla na přechodu hrudní a bederní páteře. Tyto komprese se vyskytují u žen v nižším věku častěji než u mužů. Zlomeniny mohou být velmi bolestivé, ale mohou probíhat též asymptomaticky.

Další oblastí, kde dochází k častým frakturám, je distální předloktí (Collesova fraktura), fraktura proximálního femuru, fraktury žeber a proximálního humeru. Přibližně 80 % osteoporotických zlomenin se stane v domácím prostředí. K těmto zlomeninám může dojít i při neúměrně malém úrazu.

1.8 Diagnostika osteoporózy

Součástí diagnostiky je anamnestické, fyzikální a celá řada dalších diagnostických vyšetření. Cílem těchto vyšetření je objasnění možných příčin osteoporózy, stanovení závažnosti choroby, stanovení prognózy, zvolení optimálního léčebného postupu a v neposlední řadě vyloučení onemocnění, které může osteoporózu svými projevy připomínat.

V současné době se k diagnóze osteoporózy a osteopénie využívá BMD, a to ještě před vznikem zlomenin. Používá se k potvrzení diagnózy pacientů se zlomeninou a ke sledování účinnosti terapie.(tab. č.3)

Další nedílnou součástí vyšetřovacího postupu jsou laboratorní vyšetření.

1.8.1 Rentgenové vyšetření

Rentgenový snímek je nezastupitelnou součástí diferenciální diagnostiky osteoporózy - používá se k vyloučení rachitidy, osteomalacie, patologických zlomenin či deformit u metabolických osteopatií. Každý dospělý jedinec ztrácí 0,5-0,7 % kostní hmoty ročně, proto u jedinců ve věku 70 -75 let bývá pokles kostní hmoty až 30 %. A v tomto věku rentgenové vyšetření k posouzení diagnostiky osteoporózy ztrácí na významu.

1.8.2 Metody založené na absorpciometrii

Používaná jednofotonová absorpciometrie je vhodná pouze pro vyšetření periferního skeletu, protože kost musí být obklopena co nejmenším množstvím měkké tkáně (předloktí).

Vhodnější dvouenergiová rentgenová absorpciometrie (DXA) je přesnější a čas potřebný k měření je kratší. Tato metoda umožňuje měřit libovolnou část těla, eventuálně celotělový obsah minerálu. Obvykle se měří obratlová těla L₁-L₄, předloktí, kyčel a krček femuru a přilehlé oblasti.(76)

Metoda	Poznámka
Kostní denzitometrie	Zlatý standard pro diagnózu osteoporózy Kvantitativní měření BMD Kontroluje účinnost léčby
Rentgenové vyšetření	Umožňuje diagnostiku osteoporózy při ztrátě BMD o více než 30 % Normální rtg nález nevylučuje osteoporózu Hodnocení osteoporózy z rentgenových snímků je velmi individuální Umožňuje potvrzení osteoporotické zlomeniny Umožňuje diferenciální diagnostiku dalších onemocnění kostí
Kostní scintigrafie	Umožňuje odhalit čerstvé zlomeniny Zlepšuje diferenciální diagnostiku dalších příčin kostních bolestí
Kostní biopsie	Umožňuje diagnostiku u nejasných nálezů kostí
Magnetická rezonance	Umožňuje diagnózu zlomenin neviditelných na rentgenu Odhaluje dřevňový otok u čerstvé zlomeniny
Biochemické markery osteoresorpce a osteoformace	Vypovídají o celotělové rychlosti osteoresorpce a osteoformace kosti Identifikují nemocné neodpovídající na léčbu

Tab.č.3 – Diagnostické metody u osteoporózy (18)

1.8.3 Kvantitativní výpočetní tomografie

Toto měření funguje na principu rentgenového záření. Přístroj se kalibruje pomocí fantomu a užívá se k měření hustoty minerálů obratlových těl i perferních kostí. Toto vyšetření umožňuje rozlišit kortikální i trabekulární kost. Přesnost tohoto měření je vysoká, ale je třeba vzít v úvahu vysokou radiační zátěž ve srovnání s DXA.(149)
K dalším metodám, které se používají pro vyšetření kostí, patří kvantitativní magnetická rezonance a ultrazvuková denzitometrie.

1.8.4 Základní biochemická vyšetření

Cílem biochemického vyšetření je posouzení stavu kostního metabolismu (80). Změny kostních markerů nejsou specifické pro určité kostní onemocnění. Kostní markery vypovídají o změně stavu kostní remodelace nezávisle na diagnóze. Nemohou být užity pro stanovení klinické diagnózy kostního onemocnění. Musí splňovat kritérium specificity a senzitivity pro kostní tkáň (165). Kostní markery vypovídají o celotělové úrovni resorpce a novotvorby kosti a považují se za ukazatele počtu remodelačních jednotek v kosti (tab. č.4)

Kostní markery poskytují reprezentativnější představu o rychlosti celotělového úbytku kostní hmoty než měření změn BMD, mikroarchitektury kosti nebo histomorfometrických parametrů ve specifických místech skeletu, která se liší zastoupením trámčité a kortikální kostní hmoty s rozdílným metabolickým obratem.

Kostní markery však nevypovídají o množství kostního minerálu nebo kostní hmoty a nelze je použít ani jako alternativní kritéria pro diagnostiku osteoporózy.

Kostní markery se často klasifikují podle jejich metabolické úlohy v kosti. Odlišují se proto markery kostní novotvorby (formace) a markery osteoresorpce. Mezi markery kostní novotvorby patří např. osteokalcin, PINP, alkalická fosfatáza, mezi markery kostní resorpce se řadí karboxyterminální telopeptid (CTx), aminoterminální telopeptid (NTx), deoxypyridinolin (DPD).(113)

Praktické využití kostních markerů při monitorování antiresorpční léčby:

1. U jednotlivého pacienta nelze ani ze změny BMD, ani z biochemického markeru s jistotou usoudit, že pacient neutrpí zlomeninu.

2. Nedostatečné snížení markeru tedy upozorňuje, že pacient lék neužívá předepsaným způsobem, že se efekt léku dostatečně neuplatňuje, nebo že původní diagnóza nebyla správná.
3. Všechny biochemické markery kostní novotvorby i osteoresorpce jsou výrazně vyšší u dětí a dospívajících než v dospělosti. Během puberty závisí kostní markery více na stadiu pohlavního zrání než na věku. U chlapců se v pubertě zvyšují všechny markery novotvorby kosti i osteoresorpce (včetně CTx a NTx), kdežto u děvčat se nezvyšují volné formy pyridinolinu (PYD) a deoxypyridinolinu (DPD). Po třicátém roce se markery stabilizují.
4. U dětí korelují vyšší koncentrace markerů v časných ranních hodinách s vrcholem sekrece růstového hormonu (GH).
5. U mužů se nejnižší hodnoty markerů osteoresorpce v moči zjišťují mezi 30. - 50. rokem věku, později je zvýšení jen malé. Nejnižší hodnoty markerů novotvorby v séru jsou mezi 40. - 60. rokem věku a v dalších letech se sérové hodnoty ALP, PINP, PICP, osteokalcinu zvyšují jen o 10-20 %.
6. U žen se koncentrace kostních markerů zvyšují po menopauze. Již v období menopauzy se hodnoty isoenzymu alkalické fosfatázy (iso-ALP), u-CTx a u-NTx zvyšují o 20-40 %.

Koncentrace celkového deoxypyridinolinu (DPD) a telopeptidů v moči se po menopauze v průměru zdvojnásobují. Osteokalcin v séru a isoenzym alkalické fosfatázy se po menopauze také prokazatelně zvyšují. Průměrné hodnoty kostních markerů zůstávají i v dalších letech po menopauze lehce zvýšené, u starých žen opět stoupají.

U postmenopauzálních žen byla zjištěna negativní závislost mezi markery osteoresorpce a BMI.(67,114)

7. Parametr, který nejlépe vypovídá o zásobení organismu vitamínem D je stanovení 25(OH)D₃ (kalcidiolu, 25 - hydroxycholecalciferolu). Jeho poločas v organismu je 15 dní, a proto jeho laboratorní diagnostika je snadno dostupná.

Vyšetření základní	S-Ca, U-Ca, fosfáty, magnesium, urea, kreatinin, elfo bílkovin, KO, FW, ionty, KM, glykémie, albumin, AST, ALT, GMT, ALP, TSH, základní vyšetření moče
Markery novotvorby	ALP, osteokalcin, kostní isoforma ALP, PICP, PINP
Markery resorpce v séru	ICTP, CTx, NTx
Markery resorpce v moči	DPD, NTx, CTx
Hormony	TSH, PTH, testosteron a DHEAS u mužů
Hladiny vitamínu D	25(OH)D ₃ , popř. 1,25(OH)D ₃ nad 65 let
Speciální	Estradiol, kortizol, ACTH

Tab. č. 4 - Přehled standardních laboratorních vyšetření

1.8.4.1 Markery kostní resorpce

Vypovídají o různých aspektech funkce osteoklastů a degradace kostní organické matrix, zejména kostního kolagenu. Tyto markery se preferenčně stanovují v séru nebo v plazmě, popř. v moči. Z markerů resorpce se v praxi stanovují telopeptidy kolagenu I, někde se ještě setkáme se stanovením kostního sialoproteinu, hydroxyprolinu či osteoklastické (tartarát - rezistentní) kyselé fosfatázy. Zmiňme nejčastěji používané metody (tab.č.5).

Telopeptidy kolagenu typu I

Během extracelulární maturace kolagenu jsou vlákna navzájem propojována příčnými spojkami, a to ve specifických oblastech molekuly kolagenu, zejména v N- a C-terminálních úsecích (aminoterminální a karboxyterminální). Během osteoresorpce jsou tyto úseky proteolyticky oddělovány od vláken kolagenu a přestupují do krve a pak následně do moče. Kromě hydroxyprolinu není jejich koncentrace ovlivněna degradací v nově syntetizovaných kolagenů a vypovídá o degradaci pouze dozrálého kolagenu. Koncentrace telopeptidů v moči a v krvi nezávisí na obsahu kolagenu v potravě, a proto pacienti před odběrem nemusí držet bezmasou dietu.

a) aminoterminální telopeptid kolagenu - NTx v moči nebo v séru

Je metodou volby a hodnotí stupeň osteoresorpce. Je specifický pro kolagen typu I a jeho hlavním zdrojem je kost.

b) karboxyterminální telopeptid kolagenu - CTx (β nebo α) v moči nebo v séru

Je metodou volby a hodnotí stupeň osteoresorpce. Je specifický pro kolagen typu I a jeho hlavním zdrojem je kost.

c) karboxyterminální telopeptid kolagenu - CTx-MMP

Je poměrně specifický pro kolagen typu I. Hlavním zdrojem je kost, popř. kůže, může však pocházet i z nově syntetizovaného kolagenu.

Pyridinolinové příčné spojky kolagenu v moči a v séru

Během extracelulární maturace kolagenu jsou vlákna navzájem pospojována příčnými spojkami mezi koncem jednoho vlákna molekuly kolagenu a helikální části molekuly sousedního vlákna, jejichž úlohou je stabilizovat molekulu kolagenu. Lyzin a hydroxylyzin se podílejí na tvorbě spojek DPD (lyzylpyridinolin) a PYD (hydroxylyzylpyridinolin). Během osteoresorpce jsou tyto spojky proteolyticky oddělovány od vláken kolagenu a přestupují do krve a pak do moči. Koncentrace volného deoxypyridinolinu (DPD) a pyridinolinu (PYD) není ovlivněna degradací nově syntetizovaného kolagenu a vypovídá pouze o degradaci dozrálého kolagenu. Používají se jako alternativa k CTx, popř. NTx, tedy k hodnocení stupně osteoresorpce.

Ostatní kostní markery osteoresorpce se v rutinním vyšetření standardně nepoužívají.

Markery kostní novotvorby	<p>Alkalická fosfatáza (ALP)</p> <p>-celková ALP (jaterní+ kostní+ střevní + event.placentární)</p> <p>- kostní alkalická fosfatáza</p> <p>Propeptidy kolagenu typu I</p> <p>N-terminální propeptid prokolagenu typu I</p> <p>Intaktní N-propeptid prokolagenu typu I (PINP)</p> <p>Celkový N-propeptid prokolagenu typu I</p> <p>C-terminální propeptid prokolagenu typu I (PICP)</p> <p>Osteokalcin (OC, kostní Gla protein)</p> <p>Celkový osteokalcin</p> <p>Intaktní osteokalcin (OC 1-49)</p> <p>N-MID fragment osteokalcinu (OC 1-43)</p> <p>Neúplně karboxylovaný osteokalcin (unOC)</p>
Markery kostní rezorpce	<p>Deoxypyridinolin (DPD)</p> <p>Telopeptid kolagenu typu I</p> <p>N-terminální telopeptid kolagenu typu I (NTx)</p> <p>C-terminální telopeptid kolagenu typu I (CTx)</p> <p>C-terminální telopeptid kolagenu typu I tvořený metaloproteinázami (ICTP nebo CTx-MMP)</p> <p>Osteoklastická kyselá fosfatáza (TRACP 5b)</p>
Další kostní markery	<p>Kostní sialoprotein (BSP)</p> <p>Hydroxyprolin, Hydroxylyzin</p> <p>Galaktosylhydroxylyzin</p> <p>Glykosylgalaktosylhydroxylyzin</p> <p>Pyridinolin</p>

Tab.č. 5 – Markery kostní remodelace (3)

1.8.4.2 Markery kostní novotvorby

Jsou přímými nebo nepřímými produkty aktivních osteoblastů v různých fázích jejich vývoje. Vypovídají proto o různých aspektech funkce osteoblastů a tvorby kostní organické matrix. Tyto kostní markery se stanovují v séru nebo plazmě (115).

Z markerů funkce osteoblastů se v praxi nejčastěji stanovují osteokalcin, alkalická fosfatáza a propeptidy prokolagenu typu I.

Osteokalcin (OC)

Je protein produkováný výhradně osteoblasty, odontoblasty a v malém rozsahu také hypertrofickými chondrocyty, avšak mRNA pro osteokalcin byla prokázána také v megakaryocytech a v trombocytech. Osteokalcin obsahuje zbytek kyseliny glutamové, na kterou se váží minerální složky jako vápník a hydroxyapatit. Většina osteokalcinu, který je syntetizován v kostech, zde zůstává a pouze část přechází do krevního oběhu. Zde ho lze stanovit vhodnou imunoanalýzou. Osteokalcin dává obraz tvorby kostní matrix a její mineralizace (109).

Molekula osteokalcinu je v oběhu rychle degradována, v séru lze měřit nejen intaktní peptid osteokalcinu (1-49), ale také jeho fragmenty o různé hmotnosti. U dospělých osob je třetina osteokalcinu tvořena intaktní molekulou, třetina N-terminálním a středním fragmentem molekuly a zbytek C-terminálním fragmentem. Z tohoto důvodu je výpověď různých imunoanalýz, používajících různé protilátky a stanovující různé fragmenty, velice rozdílná. V laboratoři ÚKBP se stanovuje N-MID osteokalcin.

Koncentrace osteokalcinu dobře koreluje s rychlostí kostní novotvorby.

Kostní alkalická fosfatáza (ALP)

Jedná se o ubikviterní membránový enzym. V cirkulaci se vyskytují různé izoformy, které jsou kódovány čtyřmi geny. Koncentrace ALP hodnotí stupeň kostní novotvorby.

Propeptidy prokolagenu typu I

Vznikají při syntéze kolagenu typu I. Tento typ kolagenu tvoří přes 90 % všech bílkovin organické kostní matrix. Stanovení tohoto kostního markeru se provádí v séru.

a) aminoterminální propeptid prokolagenu typu I (PINP)

Je metodou volby pro hodnocení kostní novotvorby. Je specifickým produktem proliferujících osteoblastů a fibroblastů.

b) karboterminální propeptid prokolagenu typu I (PICP)

Je méně vhodný, není specifický pro kost.

1.9 Léčba osteoporózy

Úkolem terapie osteoporózy je prevence fraktur a jejich následků, stejně jako udržení - zajištění mobility pacienta a zajištění jeho kvality života. Smyslem léčby již rozvinuté osteoporózy by mělo být zastavení nebo snížení úbytku kostní hmoty nemocných. Cílem léčby je tedy zastavení aktivity osteoklastů či naopak zvýšení aktivity osteoblastů (32,57,104,114,148).

Existují dvě strategické cesty léčby: antiresorpční terapie, která má zabránit další ztrátě kostní hmoty a anabolické terapie, jejímž cílem je zvýšení novotvorby kostní tkáně (tab.č.6).

1. Antiresorpční terapie

Tato terapie je založena na použití následujících léků:

Bisfosfonáty

Tyto deriváty kyseliny difosforečné snižují rozpustnost mikrokrystalů kostního minerálu, brání adhezi osteoklastů na kostní povrch, indukují jejich apoptózu, a tím snižují úroveň osteoresorpce, zvyšují mineralizaci kosti a její pevnost. Potlačují však také kostní novotvorbu a některé z bisfosfonátů mohou vést v důsledku vystupňovaného snížení kostního obratu k hromadění mikrotrhlin a sekundární mineralizaci kosti.

V žaludku a v tenkém střevě se resorbuje pouze 1 – 5 % bisfosfonátů, strava (hlavně bohatá na vápník a železo) tuto resorpci dále snižuje. Bisfosfonáty se tedy vždy podávají nalačno.

Účinek bisfosfonátů se objevuje již po několika měsících od zahájení podávání. Zůstávají v kosti uloženy dlouhodobě a biochemické markery kostního obratu zůstávají potlačeny až pět let po skončení jejich podávání.

Bisfosfonáty zvyšují BMD v páteři a proximálním femuru, snižují riziko vertebrálních fraktur o 30-50 %, snižují též riziko non-vertebrálních fraktur u žen s osteoporózou a glukokortikoidy indukovanou osteoporózou.

Hormonální substituční terapie (HRT)

V menopauze dochází k poklesu koncentrace pohlavních hormonů, zejména estrogenů. Ženy s vysokým rizikem vzniku osteoporózy ztrácí během jednoho roku po

menopauze 7 až 14 % kostní hmoty. Substituce estrogenu vede během 4 až 6 měsíců k normalizaci biochemických ukazatelů kostní remodelace a snižuje riziko zlomenin.

Recentní studie nepotvrdily diskutovaný ochranný účinek terapie estrogenu na výskyt komplikací aterosklerózy (42,48).

Observační studie ukázaly signifikantní redukci fraktur obratlových těl a proximálního femuru u žen užívajících HRT.

Selektivní modulátory estrogenových receptorů (SERM)

V České republice je používán preparát raloxifen. Raloxifen je nesteroidní benzothiofen, který inhibuje růst estrogen dependentních tumorů prsu a dělohy. Váže se na kostní estrogenové receptory v osteoblastech a v osteocytech. Účinek raloxifenu na markery kostního obrátu je méně výrazný než u bisfosfonátů, rovněž tak vliv na kostní densitu je menší. Snižuje výskyt vertebrálních fraktur o 30 – 50 %.

Kalcitonin

Kalcitonin je polypeptid produkovaný parafolikulárními C buňkami štítné žlázy řady živočichů, včetně člověka.

Kalcitonin působí na osteoklasty, u kterých dochází k výraznému snížení jejich aktivity, a tím snížení jejich resorpce. Kalcitonin působí také v centrálním nervovém systému vyplavováním endorfinů a má tak mírný analgetický účinek.

Užívání nazálního spreje kalcitoninu ve studii PROOF snížilo riziko nových zlomenin o 36 % ve srovnání se skupinou užívající placebo.

2. Anabolická terapie:

Teriparatide

Teriparatid je aminoterminální fragment lidského parathormonu (PTH, parathyrin). Pokud je PTH (nebo jeho účinný fragment) podáván kontinuálně, zvyšuje kostní resorpci. Při intermitentním podávání zvyšuje kostní novotvorbu a následně celou kostní remodelaci. Teriparatid aktivuje osteoblasty, stimuluje jejich diferenciaci a inhibuje jejich apoptózu. Zvyšuje tvorbu normální organické matrix v trámčité i kortikální kosti, zesiluje kostní trabekuly, zlepšuje kostní mikroarchitekturu a zvyšuje kostní sílu.

Stroncium ranelát

Stroncium ranelát je sůl kyseliny ranelové, potlačující odbourávání kosti a podporující její novotvorbu. Snižuje diferenciaci a aktivitu osteoklastů a současně zvyšuje replikaci nedozrálých osteoblastů a aktivitu jejich zralých forem. Významně působí jak na kortikální, tak na trabekulární kost ve smyslu zlepšení mikroarchitektury a zvýšení objemu kosti.

V poslední době můžeme zaznamenat mírný ústup od podávání tohoto preparátu. Toxicita stroncia, zvláště ta chronická a opožděná, totiž není dosud dobře dokumentována.

V terapii je třeba si uvědomit, že primární osteoporózu se obvykle nepodaří vyléčit, podaří se jen zastavit její progresi a zmírnit obtíže nemocného.

Nejdůležitějším a základním lékem v léčbě osteoporózy zůstává kalcium a vitamin D, a to při podávání všech dalších léků na osteoporózu.

Posledně dva zmíněné parametry jsou taktéž nejdůležitější součástí prevence vzniku výše zmíněné kostní choroby.

Antiresorpční účinek			
Skupina	Chemické složení	Příklad preparátu	Léková forma
HRT	Estrogeny	Estrogen	Tablety
	Estrogeny + gestageny	Estraderm	Náplast
Bisfosfonáty	Alendronát	Fosamax	Tablety
	Risedronát	Actonel	
	Ibandronát	Bonviva	Tablety, injekce
	Zolendronát	Aclasta	Infúze
Kalcitonin	Lososí kalcitonin	Miacalcic	Nosní spray
SERM	Raloxifen	Evista	Tablety
Osteoanabolický účinek			
Teriparatid	Parathormon	Forsteo	Injekce
Duální účinek			
Stroncium ranelát	Sůl kyseliny ranelové	Protelos	Granulát

Tab.č.6 – Stručný přehled používaných léků v ČR

1.10 Prevence

Nejdůležitější součástí léčby osteoporózy je prevence. Zdravému způsobu života by se měli věnovat nejen pacienti s již prokázanou osteoporózou, ale celá populace. Základním krokem při léčbě osteoporózy je úprava životního stylu s dostatkem pohybu, cvičením a zdravá životospráva (71,134,164).

Tělesná zátěž je nejpřirozenějším podnětem pro funkci osteoblastů. Tělesná zátěž má tak velký vliv, že při imobilizaci, během nemoci, může již během 6 měsíců ubýt až 30 % kostní hmoty. Mladé zdravé ženy by měly provozovat aktivní aerobní cvičení, a to minimálně 30 minut třikrát týdně. To lze nahradit běžnou chůzí. Pro starší osoby jsou vhodnější protahovací nebo izometrická cvičení. Cvičení přestává být účinným stimulem pro kostní hmotu v případě, že denní příjem kalcia není vyšší než 800 mg (36,66).

Zdravá životospráva je pro léčbu osteoporózy nesmírně důležitá. Strava má obsahovat vyvážený příjem živin a optimální příjem vápníku (kalcia). Je třeba se vyvarovat nadměrnému přísunu fosfátů (např. coca-cola), nadbytku soli (zvýšené vylučování vápníku močí), nadměrnému přísunu živočišných bílkovin (acidogenní působení) (51,72).

Vápník (kalcium) je ve vztahu k osteoporóze nejdůležitějším minerálem. Klíčovou roli hraje vápník v období dětství a dospívání (do 30. roku), kdy je jeho dostatek podmínkou pro výstavbu zdravých a silných kostí. Pro udržení kostní hmoty je příjem vápníku důležitý i v průběhu života. Ke vstřebávání vápníku dochází v tenkém střevě. Na nedostatek vápníku jsou citliví zejména starší lidé, u nichž je nedostatečný adaptační mechanismus. Vstřebávání vápníku příznivě ovlivňuje vitamin D (61). Průměrný příjem vápníku u dospělého jedince v České republice je 750 mg /den. Přitom minimální doporučená denní dávka je 1000 mg vápníku (14,62,68,70,99,112,159,162).

2 Vitamin D

2.1 Historie

Fytoplankton oceánů syntetizuje vitamin D již 750 miliónů let. První kompletní klinický popis rachitis způsobené nedostatkem vitamínu D publikoval ve své doktorské práci v roce 1645 doktor Daniel Whistler a profesor Francis Glisson.

Teorie o předpokládané existenci nového vitamínu experimentálně doložil sir Edward Mellanby v letech 1919-20. Psi uzavření v prostorech bez přítomnosti slunečního záření či ultrafialového světla dostávali speciální dietu - potraviny obohacené o olej z tresčích jater. Mellanby tak prokázal antirachitické účinky rybího tuku nejprve na zvířatech a posléze se stejný efekt potvrdil i u dětí. V roce 1921 pak tuto látku identifikoval jako vitamin rozpustný v tuku.

Krátce nato, v roce 1923, popsali Goldblatt a Soames přeměnu 7- dehydrocholesterolu na vitamin D za pomoci ultrafialového světla.

Chemická struktura vitamínu D₃ byla určena v roce 1930 v laboratoři profesora A. Windause v Gottingenu v Německu. Vitamin D₂, který vzniká po ultrafialovém ozáření z ergosterolu, byl chemicky určen v roce 1932. Následně bylo prokázáno, že vitamin D patří chemicky mezi steroidy, konkrétně sekosteroidy.(168)

2.2 Metabolismus vitamínu D

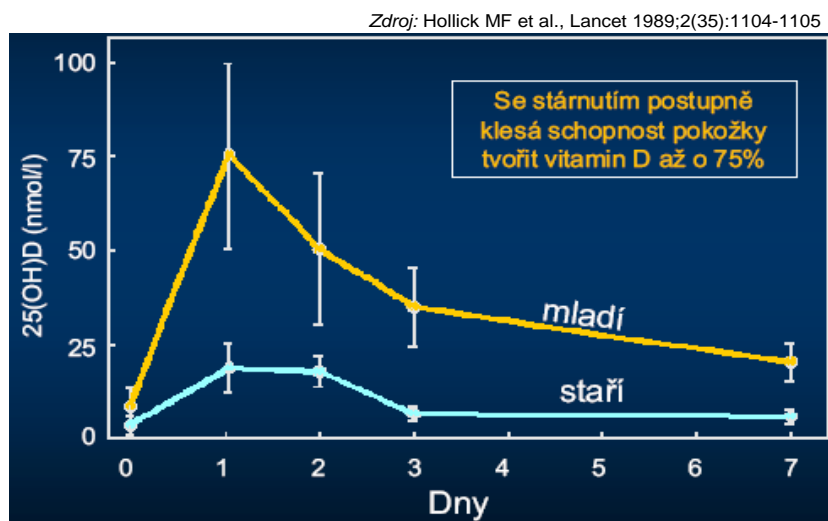
Pod pojmem vitamin D se rozumí dvě chemické formy, ergokalciferol, vitamin D₂ a cholekalciferol, vitamin D₃.

Ergokalciferol vzniká fotochemicky po ozáření ultrafialovým světlem z ergosterolu v houbách a plísních (obr.8) (101).

Cholekalciferol se dostává do organismu dvěma způsoby (obr.7). V kůži přítomný 7 – dehydrocholesterol je konvertován působením UV záření v oblastech 290-313 nm na 7 – dehydrocholecalciferol. 7 - dehydrocholecalciferol se hromadí v kůži v koncentraci okolo 1µg/cm² a z jeho celkového množství se k tvorbě cholekalciferolu využije méně než 20 %.

Penetrace záření je usnadněna vlhkou kůží, naopak pigmentovaná kůže penetraci brání. S přibývajícím věkem prudce klesá schopnost kůže tvořit cholekalciferol, což je jednou z příčin jeho nízké hladiny u seniorů (obr.č.6).

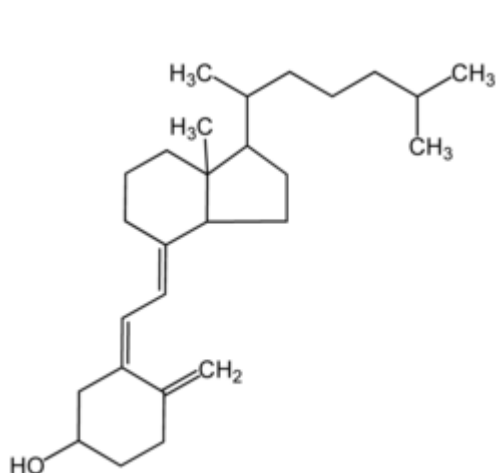
Změny 25-(OH)D₃ po celotělové expozici slunečnímu záření u osob ve věku 20 - 30 let a 62 – 80 let



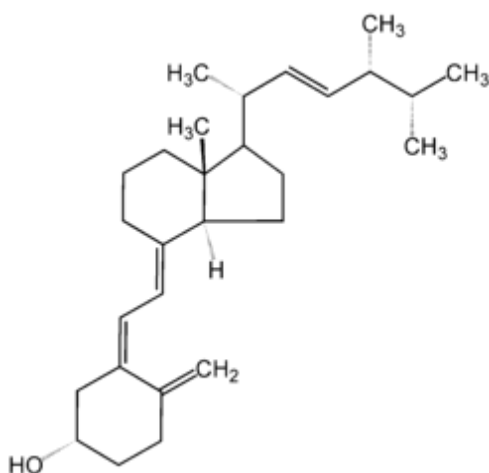
Obr. č. 6 – Expozice slunečního záření

Druhým způsobem příjmu cholekalciferolu je alimentární cesta. Existuje však jen málo potravin, obsahujících tento vitamin. Z běžné potravy je možné získat jen 50 – 150 IU denně. Dietou pak lze získat maximálně 30 % potřebného množství vitamínu D.

Průměrná racionální dieta obsahuje asi 230 IU/den. Proto v závislosti na způsobu a zeměpisné šířce nemusí být dosaženo doporučeného denního příjmu (97,107,139,144).



Obr. 7 - cholekalciferol,
živočišný prekurzor kalcitriolu



Obr. 8 - ergokalciferol,
rostlinný prekurzor kalcitriolu (146)

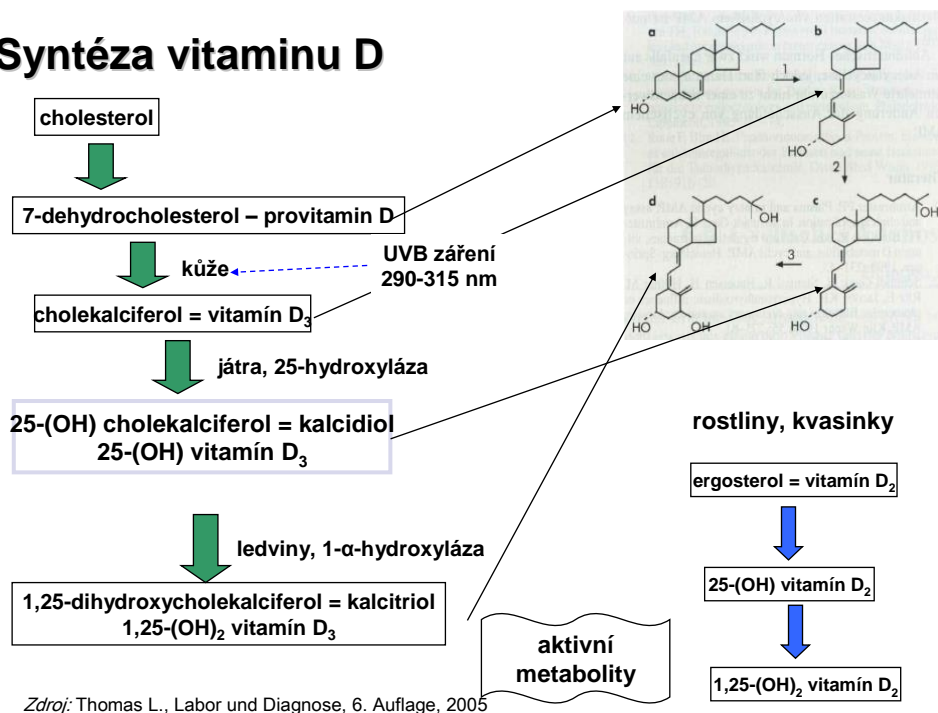
Počátečním krokem k aktivaci vitamínu D je hydroxylace 7 – dehydrocholecalciferolu na uhlíku 25. K této hydroxylaci dochází v endoplazmatickém retikulu jaterní buňky. Vzniká 25 – hydroxycholecalciferol (kalcidiol, označovaný zkráceně jako 25(OH)D₃). Kapacita jater tvořit kalcidiol je vysoká. Koncentrace kalcidiolu v plazmě je dobrým ukazatelem stavu vitamínu D v organismu. 25-hydroxylace v játrech není téměř regulována a je limitována pouze v terminálních fázích renálního selhání. 25(OH)D cirkuluje v cévním řečišti navázaný na vitamin D binding protein (VDBP). (73,138)

Další enzymatická hydroxylace se odehrává převážně v ledvinách, v mitochondriích proximálního tubulu, kde za pomoci 25(OH)D₃-1 α hydroxylázy se mění kalcidiol na vysoce aktivní vitamin 1,25- dihydroxycholecalciferol (kalcitriol, zkráceně 1,25(OH)₂D₃). 1- α hydroxyláza je přítomna také v placentě, v buňkách granulomatózní tkáně a v kostech. Kapacita ledvinné tvorby kalcitriolu je omezená a je řízena hladinou sérového kalcia a fosforu, jakož i řadou hormonů. (13)

Dostatečná koncentrace kalcitriolu suprimuje 1- α hydroxylaci a biologicky neaktivní 25(OH)D₃ zůstává v cirkulaci, je uskladněn v tukovém depu nebo je po 24 - hydroxylaci vyloučen ledvinami. Tato přísně kontrolovaná aktivace vitamínu D je ochrana před hyperkalcémií, která by následovala po každém větším příjmu vitamínu D potravou nebo po intenzivnějším slunění (83).

Klíčovým regulátorem hladiny cirkulujícího metabolitu vitamínu D, kalcitriolu, není pravděpodobně kalcium, ale parathyrin (dále PTH). Hypokalcémie je výrazným podnětem pro sekreci PTH, který stimuluje hydroxylaci $25(\text{OH})\text{D}_3$ na $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ buď přímým účinkem nebo nepřímo prostřednictvím deplece anorganického fosfátu v buňkách ledvinné kůry. Zvýšená hladina tohoto metabolitu, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, jednak redukuje v ledvinách svou vlastní produkci a jednak stimuluje produkci $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, který snižuje sekreci PTH.(13,16,19,34,77)(obr.č.9). Další velice důležitý metabolit vitamínu D_3 je $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Za normálních okolností je jeho sérová koncentrace desetkrát menší než koncentrace $25(\text{OH})\text{D}_3$ ($1\text{--}3\mu\text{g/l}$).

Syntéza vitamínu D



Obr.č. 9 – Syntéza vitamínu D

2.3 Účinky vitamínu D

1. Vliv vitamínu D na kalciovou homeostázu

Vitamin D pomocí zvýšené exprese ATP-dependentních kanálů podporuje facilitovanou difúzi kalcia skrze epiteliální střevní buňky proti elektrochemickému gradientu. Při absenci je střevní absorpce kalcia uskutečňována jen pasivním paracelulárním přechodem a vstřebávání kalcia se redukuje na 12,5 % celkového příjmu kalcia. Kalcitriol také snižuje vylučování vápníku a fosforu ledvinami (tab.č.7)(23,92,131).

2. Osteoporóza

Kalcitriol ovlivňuje expresi mnoha genů, jejichž produkty (osteokalcin, osteopontin, RANKL, PTH) působí ve formování extracelulární kostní matrix a kostní remodelaci. Po aktivaci receptorů pro vitamin D dochází ke zvyšování počtu aktivních osteoblastů, redukcii aktivity osteoklastů a normalizaci vysokého kostního obratu.

Vitamin D spolu s parathyrinem za fyziologických podmínek udržují remodelaci skeletu a udržují kalciovou rovnováhu (16,84).

3. Nádorová onemocnění

Existují retrospektivní studie, které prokazují korelaci mezi nízkou sérovou koncentrací vitamínu D a incidencí nádorových onemocnění. Existují i prospektivní randomizované studie prokazující efekt suplementace vitamínu D na snížení incidence všech typů nádorových chorob (22,30,85,125,162). Příkladem účinnosti vitamínu D může být 50 % snížení rizika kolorektálního karcinomu a karcinomu prsu při normální koncentraci vitamínu D.(161)

4. Kardiovaskulární onemocnění

Vitamin D ovlivňuje pravděpodobně kardiovaskulární systém supresí genové exprese reninu, modulací vlastností srdečního svalu a cévní stěny regulací proliferace hladké svaloviny či kolagenního vaziva, snížením trombogenního a prozánětlivého prostředí a snížením sekundární hyperparathyreosy, spojovanou se zvýšenou kardiovaskulární mortalitou.

5. Imunitní systém

Vitamin D má imunomodulační funkci zprostředkovanou antagonizováním funkce transkripčního faktoru NF-AT. Vitamin D působí imunosupresivně na Th1 buněčnou linii snížením tvorby IL-2, IL-12, GM-CSF a jiných cytokinů (63,87,158).

6. Ovlivnění svalové funkce a rizika pádu

Více než jedna třetina lidí ve věku nad 65 let prodělá každý rok pád, který v 5 % případů končí zlomeninou a v 10 % je komplikován vážným zraněním (136). Deficience vitamínu D signifikantně koreluje se sníženou svalovou silou, poruchou koordinace v prostoru, a tedy rizikem pádu (10,52,69,88,103,111,117,160). Kosterní sval je cílovou tkání působení vitamínu D.

7. Obezita

Řada klinických studií prokazuje inverzní vztah mezi obezitou a koncentrací vitamínu D, vzrůstá tedy zájem o zjištění úlohy vitamínu D v regulaci energetického metabolismu (40,93). Nejpravděpodobnější vysvětlení snížené sérové koncentrace vitamínu D je sekvestrace vitamínu v tukové tkáni (94).

8. Diabetes mellitus 2. typu

Existují retrospektivní studie potvrzující korelaci deficience vitamínu D a neuspokojivé kompenzace diabetu či inzulinorezistence.

9. Diabetes mellitus 1. typu

Zapojení vitamínu D v regulaci imunitního systému s pozitivním vlivem na autoimunitní onemocnění vede k předpokladu pozitivního vlivu sérové hladiny vitamínu D na incidenci i průběh diabetu mellitu 1. Typu (DM1).(60)

2.4 Choroby spojené s nedostatkem vitamínu D

Následkem nedostatku vitamínu D vznikají metabolické kostní choroby - rachitis u dětí a osteomalacie u dospělých (11,21). Obě tyto choroby mají společný patogenetický základ, ale liší se klinickými a patologickoanatomickými projevy, což je dáno rozdílností mezi rostoucím a dospělým organismem (tab.č.7) 89).

Příčina	Projevy
Porušená tvorba 25(OH)D ₃	Jaterní choroby (pokročilá parenchymová a cholestatická onemocnění)
Porucha účinnosti 1,25(OH) ₂ D ₃	Rachitis nezávislá na vitamínu D, typu I (pseudokarence vitamínu D) Rachitis závislá na vitamínu D, typu II
Jiné formy	Familiární hypofosfatemická rachitis, chronické selhání ledvin, Fanconiho syndrom, renální tubulární acidóza, diabetes mellitus, hypoparatyreodismus

Tabulka č. 7 - Klasifikace rachitis a osteomalacie (7)

2.5 Doporučený příjem vitamínu D v populaci

Deficit vitamínu D se zjišťuje velmi často u postmenopauzálních žen s osteoporózou, u pacientů se zlomeninami obratlů či zlomenin proximálního lemuru (55). Deficit vitamínu D je celosvětový jev a klinická data potvrzují, že je nezávislým rizikovým faktorem zlomeniny proximálního femuru. Úprava deficitu vitamínu D snižuje riziko zlomeniny i díky zlepšení stability a snížením rizika pádu (10,111,117), což prokazují mnohé klinické studie.(12,28,59,86,116,133,140,142,143,145,146)

V České republice neexistuje striktní doporučení, jakou dávku vitamínu D, v kterém období, či komu nebo jaký typ vitamínu D podávat. K dispozici jsou doporučení jen pro určité skupiny nemocných (osteoporóza, renální insuficience, gravidita). V současné době není jednotně stanovena dostatečná koncentrace vitamínu D, ani dělení dle saturace vitamínem D na deficienci a insuficenci.

Běžná praxe je podávání vitamínu D ve formě ergokalciferolu či cholekalciferolu (bez rozlišení účinnosti forem vitamínu D) dětem do jednoho roku věku, resp. dětem v zimě narozeným až do dvou let.

Pro jiná věková období není doporučen příjem vitamínu D. Jednotlivé literární prameny se liší v doporučených dávkách pro jednotlivé věkové skupiny. Uvedme si pár příkladů:

Předpokládaná denní potřeba vitamínu D u běžného dospělého jedince je mezi 1000 - 2000 IU. U běžného dospělého pochází 95 % vitamínu D z UVB záření a pouze 5 % z příjmu potravy. (39,83)

Nejsou-li u dětí známky karence či rentgenologické změny ve smyslu nedostatku vitamínu D, není zvláštní suplementace mimo potravní doplňky nutná. Dospívajícím jedincům, i v případě nepřítomnosti jakékoliv karence, je vhodné přidat suplementaci 400 IU/den. U starších pacientů, kde se předpokládá snížená absorpce vitamínu D, by měla být v případě normálních hodnot vitamínu D v séru předepsána suplementace minimálně 800 IU/den. U starších 70 let, kde je obvyklá karence nebo těžká hypovitaminóza, by suplementace měla činit 2000 IU/ den. (141,149).

Cílovou sérovou koncentrací 25(OH)D₃ 75-80 nmol/l lze dosáhnout dávkou 800 – 1600 IU vitamínu D₃ denně, doplněnou k běžnému dietnímu příjmu a tvorbě vitamínu D v kůži.(118)

Na posledním kongresu IOF v květnu 2010 ve Florencii zazněla doporučená denní suplementace vitamínu D₃ pro starší dospělé 800 až 1000 IU/den (65).

Přesto se i nadále názory na podávání vitamínu D a jeho metabolitů různí. Ve většině odborných prací převládá názor, že léčba vitamínem D zlepšuje resorpci podávaného kalcia střevem a příznivě ovlivňuje výskyt dalších kompresivních fraktur. Úspěšné je podávání vitamínu D u seniorů, kde je nízká expozice slunečním zářením a jednotvárný jídelníček s nedostatečným přísunem vitamínu D. Proto není 25-57 % prevalence deficiencie vitamínu D zjištěná studií 18875 neinstitucionalizovaných dospělých překvapením. Prevalence deficiencie vitamínu D u institucionalizovaných osob (domovy důchodců, léčebny pro dlouhodobě nemocné) se pohybuje dokonce okolo 98 %.(83)

Insuficience vitamínu D, která se často objevuje u osob s osteoporózou (8,98,102), může být hodnocena podle sérové hladiny 25 - hydroxycholecalciferolu. Hodnota 25(OH)D₃ menší než 50 nmol/l je interpretována jako vitamin D - deficiencie. Hodnoty 25(OH)D₃ do 50 nmol/l jsou nedostatečné pro správnou mineralizaci kosti a může dojít ke zvýšené sekreci PTH (tab.č.8). Podle řady epidemiologických studií se hladina PTH v séru začíná zvyšovat již při hodnotách 25(OH)D₃ pod 75 nmol/l (4,15,53,56,96).

Kategorie	Vitamin D (nmol/l)
Deficiencie	< 50
Insuficience	50-80
Norma	80-250
Nadbytek	>250
Intoxikace	>325

Tab. č.8 - Třídění podle koncentrace vitamínu D (83)

Biologický poločas 25(OH)D₃ v cirkulaci je 15 dní. Poločas 1,25(OH)₂D₃ je přibližně 6 hodin.

Do 65. roku je hlavním zdrojem vitamínu D slunění. Patnáctiminutové slunění by mělo stačit člověku k vytvoření potřebné dávky vitamínu D na den. Jenže používání krémů s ochranou před UV zářením (46) a obavy z nádorového onemocnění kůže nepřispívají k dostatečné tvorbě vitamínu D. Například krém s faktorem SPF (Sun Protection Study) 15 absorbuje 93 % dopadajícího UVB záření, krém s faktorem SPF 30 absorbuje 97 %. Krém s faktorem vyšším než SPF 50 již prakticky vyšší ochranu nezajistí (129,151).

Proto je v řadě zemí (USA, Kanada) doporučena suplementace vitamínem D napříč celou populací, jak ukazuje následující tabulka (tab.č.9) (43,45,48).

Věk	Muži (IU/den)	Ženy (IU/den)
0-6 měsíců	200 IU	200 IU
7-12 měsíců	200 IU	200 IU
1-3 roky	200 IU	200 IU
4-8 let	200 IU	200 IU
9-13 let	200 IU	200 IU
14-18 let	200 IU	200 IU
19-50 let	200 IU	200 IU
51-70 let	400 IU	400 IU
71 let a starší	600 IU	600 IU
Těhotné	-	200 IU
Kojící ženy	-	200 IU

Tab. č.9 - Adekvátní příjem vitamínu D (Recommended Dietary Allowance) (137)

2.6 Lékové interakce

Hladiny vitamínu D mohou být ovlivněny celou řadou léků.

Hormonální substituční terapie obsahující estrogény zvyšuje hladiny vitamínu D v krvi, což může mít pozitivní vliv na kostní metabolismus. Tento vliv se neuplatňuje při současné aplikaci progesteronu.

Isoniazid zvyšuje hladiny vitamínu D v krvi.

Thiazidová diuretika zvyšují aktivitu vitamínu D a mohou způsobit vysoké hladiny kalcia v krvi.

Antacida, cholestyramin snižují absorpci vitamínu D a ovlivňují jeho účinnost.

Blokátory kalciových kanálů snižují produkci vitamínu D v lidském těle.

Phenobarbital, phenytoin mohou urychlovat využití vitamínu D v těle.

Bylo prokázáno zvýšení účinku doxorubicinu po příjmu vitamínu D.

Antiobezitika typu orlistat ovlivňují hladiny vitamínu D (snižují absorpci tuku ve střevě).(19)

2.7 Intoxikace vitamínem D

Toxická koncentrace pro 25- hydroxycholecalciferol nebyla jasně stanovena. Kriteřiem vysokého příjmu vitamínu D je hyperkalcémie.

Podle doporučení zdravotní komise WHO je ještě tolerovaná horní hranice příjmu vitamínu D 2000 IU /den (141).

Nově je za zcela bezpečnou a potřebnou denní dávku vitamínu D považována suplementace mezi 1000 až 2000 IU (82,139).

Obecně platí, že dávka vitamínu D by měla být tak vysoká, aby hladina aktivního metabolitu kalcidiolu v plazmě potlačovala sekreci PTH příštítnými tělisky.

Sluneční ozáření zajistí dospělému člověku 10 000 IU vitamínu D za den. Tato dávka se ještě považuje za bezpečnou. Nežádoucí účinky ve formě nefrolitiázy se dostavují při denních dávkách vyšší než 10 000 IU. Dávka vitamínu D 40 000 IU za den je považována za toxickou (50).

2.8 Fortifikace potravin

V USA a Kanadě je fortifikace vitamínem D v potravinách běžná – mléko, rostlinné tuky. V České republice není na fortifikaci potravin jednotný názor. Nicméně i u nás k fortifikaci potravin vitamínem D dochází. O vitamín D jsou obohaceny rostlinné tuky, např. Flora, Flora Pro Activ, Rama olivio. Celková dávka je 7,5 µg vitamínu D₃/100 g (300 IU).

V následující tabulce (tab.č.10) je pak přehled obsahu vitamínu D v jednotlivých potravinách (nefortifikovaných).

Potravina (100g)	Vitamin D (IU)	Potravina (100g)	Vitamin D (IU)
Pstruh mořský	440	Uzený losos	200
Sumec	20	Sardinky v oleji	200
Štika	40	Sardinky v tomatu	320
Halibut	200	Sleď nakládaný	640
Losos	480	Tuňák v oleji	120
Makrela	120	Mléko plnotučné	0,8
Sardinka	400	Jogurt bílý 3,5%	2,4
Treska	40	Máslo	40
Tuňák	240	Ementál 45%	120
Kreveta	20	Hermelín	12
Ústřice	80	Parmezán	24

Tabulka č. 10 – Obsah vitamínu D v potravinách

3 Hypotézy a cíle práce

Celá práce je rozdělena do několika systémových úseků.

1. Zjištění optimální laboratorní vyšetřovací metody pro stanovení hladin vitamínu D.
2. Studie v roce 2008 se týkala stanovení hladin vitamínu D u zdravé populace. Jejím cílem bylo prokázat, že i dospělá zdravá populace trpí deficitem vitamínu D.
3. Studie v roce 2009 za účelem průkazu, že bez ohledu na rozpory v doporučené suplementaci vitamínu D, české pacientky s poruchami kostního metabolismu trpí deficitem vitamínu D i při doporučené terapii vitamínem D.

3.1 Optimální laboratorní vyšetřovací metoda

V počátcích zájmu o vitamin D byly ke stanovení 25-OH vitamínu D nebo 1,25(OH)₂ vitamínu D používané extrakční metody na principu radioimunoanalýzy (RIA). Ke zjišťování hladina vitamínu D jsme zvolili jeho jaterní metabolit 25-OH vitamin D₃, protože 1,25 (OH)₂D₃ (kalcitriol) může, díky zvýšené sekreci PTH při poklesu absorpce kalcia ve střevě a tím za zvýšené tvorby 1,25 (OH)₂vitamínu D₃ zůstat v normálním rozmezí (43-149 pmol/l).

3.1.1 Stanovení 25-OH vitamínu D ELISA soupravou

V laboratoři ÚKBP jsme zavedli vyšetřování hladin 25-OH vitamínu D v okamžiku, kdy se na trhu objevilo bezextrakční stanovení od firmy IDS „25-Hydroxy Vitamin D EIA“. Jedná se o enzymoimunoanalytickou soupravu pro kvantitativní stanovení 25-OH vitamínu D a dalších hydroxylovaných metabolitů [25-(OH) vitamin D₂, 24,25-(OH)₂ vitamin D₃, cholekalciferol a ergokalciferol] v séru nebo plazmě (2,147,166,167).

3.1.2 Stanovení 25-OH vitamínu D vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC)

Druhou sledovanou analýzou bylo stanovení tohoto vitamínu pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Chromatografie patří mezi separační metody, při které se separují složky obsažené ve vzorku. Společným znakem chromatografických metod je nepřetržitá - kontinuální separace složek mezi dvě fáze;

pohyblivou – mobilní často označovanou jako eluent a nepohyblivou tzv. stacionární fázi (9,29,81).

Pohyblivou fázi představuje kapalina, tj. eluční činidlo, kterými jsou jednotlivé složky z kolony eluovány (81). Složení mobilní fáze může zůstat stále tzv. isokratická eluce nebo se během separace mění tzv. gradientová eluce (9). Často se užívá směs rozpouštědel (methanol, acetonitril) s vodou nebo vodným roztokem pufru (64).

Nepohyblivou, tj. stacionární, fázi tvoří materiál, kterým je plněná chromatografická kolona nebo ze kterého je zhotovena tenká vrstva, na které dělení probíhá. Stacionárními fázemi ve vysokoúčinné kapalinové chromatografii (HPLC) jsou nejčastěji modifikované silikagely nebo různé kopolymery. Povrch silikagelu je díky silanovým skupinám Si-OH polární a slabě kyselý a může být modifikován různými alkylchlorsilany s délkou alifatického uhlíkového řetězce 1 až 18, které tyto skupiny mohou nahradit a vytvořit vázané fáze. Jsou to hydrolyticky stálé siloxany, které dávají stacionární fázi specifické charakteristiky odlišné od nemodifikovaného silikagelu. Mezi nepoužívanější vázané fáze patří oktadecylsiloxany (C18 čili ODS), které jsou užívány v režimu reverzních fází. Silikagel napojený nepolárními řetězci C8 nebo C18 představuje nepolární pohyblivou fázi a kapalina protékající kolonou představuje pohyblivou polární fázi. Sorpce je proces, kdy se dělená látka z mobilní fáze zachytí na fázi stacionární, desorpce je proces obrácený. V chromatografii se oba principy neustále střídají a celý systém je v dynamické rovnováze (29,64).

Mezi hlavní sorpční mechanismy patří principy:

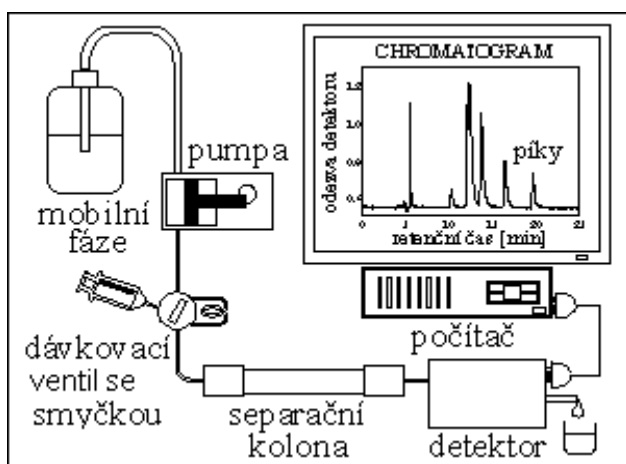
- rozdělovací
- adsorpční
- iontově výměnný
- gelový
- afinitní (58,64)

Při adsorpci mohou působit

- hydroföbní interakce (van der Waalsovy síly)
- interakce dipól-dipól

- vodíková vazba
- elektrostatická interakce (58,64)

Zařízení pro kapalinovou chromatografii se nazývá kapalinový chromatograf (obr.10). Skládá se ze zásobníku kapaliny s odplyňovačem, z vysokotlakého čerpadla, z chromatografické kolony, z dávkovače vzorku (manuální ventil, autosampler), detektoru a příslušného počítačového softwaru (29).



Obč. č. 10 - Kapalinový chromatograf

Pracuje se s úzkými kolonami (průměr 2-6 mm), k jejich plnění se používá tříděný materiál s malými částicemi. Pro separaci vzorků extrahovaných do organických rozpouštědel se obvykle používá tzv. reverzních fází. Více se zdrží složky, které jsou stacionární fází poutány silněji. Tím se postupně složky od sebe separují a nakonec stacionární fáze se dostávají dříve složky méně zadržované. K ochraně kolony se používají předkolony umístěné mezi čerpadlo a dávkovací zařízení. Chrání kolonu před nečistotami a nerozpustnými materiály. Kvalita chromatografického dělení je charakterizovaná účinností kolony a rozlišením. Účinnost chromatografické kolony je definovaná počtem teoretických pater. Materiál čerpadla nesmí být narušován mobilní fází a nesmí do ní uvolňovat žádné látky (9, 29).

U HPLC prochází eluát vytékající z kolony průběžně detektorem umístěného na výstupu z kolony. Detektory pak automaticky a kontinuálně měří některou z fyzikálních vlastností eluátu (29).

Používané detektory:

- absorpční fotometrický
- fluorescenční
- refraktometrický
- amperometrický
- vodivostní
- detektor s diodovým polem (DAD)
- hmotnostní spektrometr (58)

Detektory v HPLC by měli být selektivní pro analyty a málo citlivé na mobilní fázi. Průtočná cela detektoru musí snést tlak mobilní fáze a udržet těsnost (9).

Signál z detektoru je automaticky kvalitativně i kvantitativně vyhodnocen pomocí počítačového programu. Počítačový program měří průběžně retenční čas, provádí integraci píků a slouží též k programování chromatografických podmínek a k jejich kontrole v průběhu analýzy. Poloha píku na ose X (retenční čas) charakterizuje kvalitu (srovnává se se záznamem současně děleného standardu) a výška píku (příp. jeho plocha) udává kvantitu stanovované látky (29).

Předností HPLC je rychlost analýzy, vysoká dělicí schopnost, možnost automatické detekce, identifikace a kvantitativní vyhodnocení chromatogramu. Touto technikou je možné dělit i termolabilní a polární látky. HPLC se v klinické biochemii využívá při terapeutickém monitorování léků, identifikaci a stanovení léčiv a jejich metabolitů v biologickém materiálu, steroidních hormonů, aminokyselin a jejich derivátů, katecholaminů, ke kontrole čistoty léků atd. (29).

3.1.3 Stanovení 25-OH vitamínu D na analyzátoru Cobas e411

Na podzim roku 2007 uvedla firma Roche na trh stanovení 25-OH vitamínu D v séru na automatickém analyzátoru Cobas e411.

Analyzátor měří na principu elektrochemiluminiscence (ECL) využívající značení rutheniovým chelátem, který je zodpovědný za světelnou emisi. Stěžejním činidlem-iniciátorem celé ECL reakce je tripropylamin (TPA) - ProCell, který funguje jako přenašeč elektronu na rutheniový chelát (po vložení napětí na pracovní elektrodu a oxidaci TPA a rutheniového chelátu). Přenosem elektronu na rutheniový chelát dojde k jeho redukci na nestabilní excitovanou formu a při návratu do stabilního stavu dojde

k vyzáření fotonu, který se měří fotonásobičem. Pomocí analog-digitálního konvertoru dostaneme tzv. „counts“, které jsou kvantifikací vyzářených fotonů. Počet „counts“ je pak úměrný koncentraci analytu ve vzorku. Hlavním přínosem celé technologie je neustálé opakování oxido-redukčních dějů na pracovní elektrodě až do spotřebování TPA - ProCell, což snižuje mez detekce a zvětšuje měřicí rozsah (20,49).

Všechny výše zmíněné analýzy byly validovány dle platných norem ISO 9001:2001 a prošly akreditačním řízením.

3.1 Studie 2008

Vitamin D₃ (cholecalciferol) vzniká v lidské kůži fotochemickou reakcí ze 7-dehydrocholesterolu, je-li vystaven záření o vlnové délce 230-313 nm. Hladina vitamínu D a jeho metabolitů odpovídá ročnímu období a průměrné době expozice kůže slunci.

Tato studie se zaměřila na zdravou populaci produktivního věku a na populaci léčených postmenopauzálních žen s poruchou kostního metabolismu a populaci postmenopauzálních žen bez známek kostního onemocnění. Cílem této studie bylo stanovení hladin vitamínu D₃ v jednotlivých časových obdobích, závislých na intenzitě slunečního záření.

3.2 Studie 2009

Studie z roku 2008 prokázala deficit vitamínu D v jednotlivých sledovaných skupinách. Deficit vitamínu D je běžný nejen u starší populace, ale i u populace v produktivním věku.

Studie z roku 2009 byla zaměřena pouze na pacientky s poruchou kostního metabolismu, a sice s denzitometricky prokázanou osteopénií či osteoporózou. Všechny pacientky byly suplementovány vitamínem D, téměř vždy dávkou vyšší, než je dávka doporučovaná pro českou populaci. Pacientky nedostávaly jinou substituci vitamínem D a jídelníček odpovídal běžné racionální stravě. Žádná z pacientek nebyla dlouhodobě hospitalizována a nebyla pacientkou léčebny pro dlouhodobě nemocné.

Cílem této studie pak bylo prokázat u takto léčených pacientek nedostatečnou suplementaci vitamínem D.

4 Materiál a metody

4.1 Analytické metody

4.1.2 Analytická metoda na stanovení 25-OH vitamínu D₃ ELISA soupravou

Popis metody:

Kalibrátory, kontroly a vzorky séra jsou ve zvláštních zkumavkách zředěny biotinem značeným 25-(OH) vitamínem D₃. Zředěné vzorky jsou po napipetování do mikrotitračních jamek, které jsou potaženy vysoce specifickou ovčí protilátkou proti 25-OH vitamínu D, inkubovány po dobu 2 hodin při pokojové teplotě za vytvoření komplexu antigen - biotin - protilátka, následně odsáty a promyty. Do jamek je poté přidán avidin značený enzymem (křenová peroxidáza). Avidin se selektivně váže na biotin v komplexu. Po odmytí, přidání chromogenního substrátu (TMB – 3,3',5, 5'-tetramethylbenzidin), 30ti minutové inkubaci a zastavení reakce přidáním HCl, je vzniklé zbarvení změřeno při 450 nm (reference 650 nm). Intenzita zbarvení (absorbance) je nepřímě úměrná koncentraci 25-OH vitamínu D.

I když se RIA metody považovaly za standard imunochemických metod, tak přínos ELISA stanovení je nejenom v odstranění náročné a zdlouhavé extrakce, ale i v nutnosti mít speciální vybavení pro použití radioizotopových metod (obr.č.11).

Nevýhodou této metody je, že se stanovují i další metabolity, což komplikuje srovnání s jinými metodami. Důležitá je též preanalytická fáze – doprava vzorku na ledu, okamžitá separace krevních elementů a uchování vzorků při -20 °C. Z ekonomického hlediska je vhodné zaplnit celou mikrotitrační destičku, což prodlužuje dobu odezvy na požadavek lékaře.



Obr. č. 11 – ELISA reader

4.1.3 Analytická metoda na stanovení 25-OH vitamínu D₃ pomocí

HPLC

Analytické metody

Stanovení koncentrace 25-OH-vitamínu D₃ a 25-OH-vitamínu D₂ v séru pomocí HPLC

Hladiny vitamínů byly stanovovány na kapalinovém chromatografu firmy Ecom, s.r.o.

Sestava HPLC (obr.č.12):

- UV detektor LCD 2083 (Ecom)
- Čerpadlo LCD 4020 (Ecom)
- Nástříkový ventil 7725i (Rheodyne), smyčka 25 µl
- Počítač s vyhodnocovacím programem CSW

Reagencie a pomocné roztoky:

Ke stanovení byl použit kit firmy Chromsystems, který obsahoval:

- Mobilní fáze (38031)
- Kalibrační standard, 5 x 2 ml (38033)
- Vnitřní standard (38004)
- Precipitační roztok (38005)
- Wash Buffer 1 (38006)
- Wash Buffer 2 (38007)
- Elution Buffer (38009)
- Kolonky na SPE extrakci (38008)
- Mikrozkušavky chráněné před světlem (33005)
- HPLC kolonu (38130)

Ostatní materiál:

- Špičky
- Vortex (Velp Scientifica)

- Centrifuga (eppendorf)
- Ultrazvuk
- Analytické váhy (Metler Toledo)

Příprava vzorku

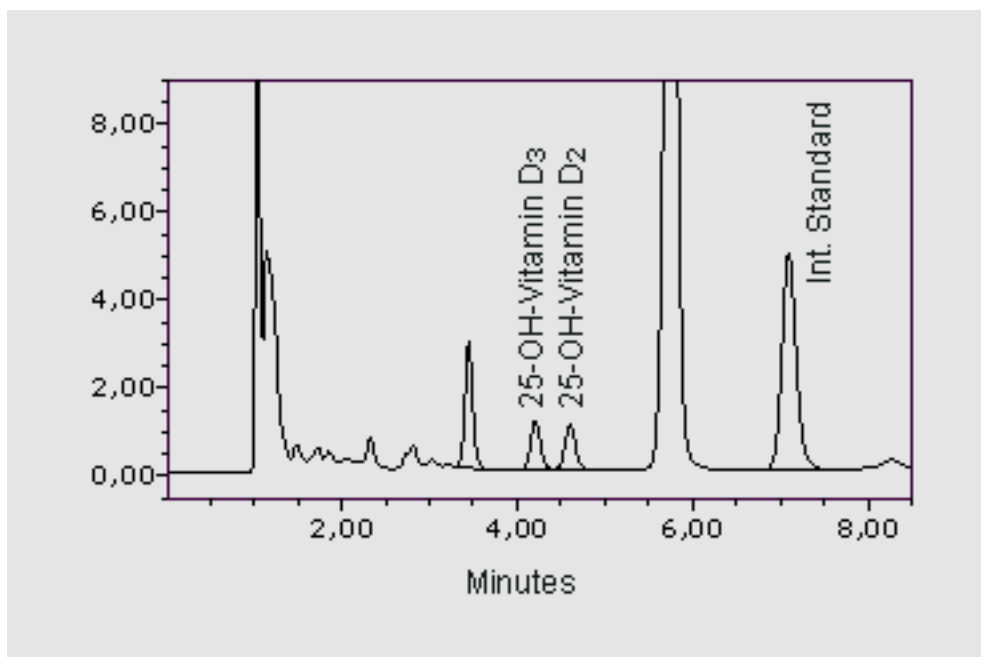
Bylo odebráno 500 μ l séra a k němu přidáno 50 μ l vnitřního standardu do mikrozkušavky chráněné před světlem. Směs byla krátce vortexována. Ke směsi bylo poté přidáno 500 μ l precipitačního roztoku a vzorek byl 20 s vortexován. Po promíchání byla mikrozkušavka vložena do chladničky na 10 min. Zchlazená mikrozkušavka se vzorkem byla centrifugována 5 minut při 13000 rpm. Po zcentrifugování byl všechn supernatant aplikován na SPE kolonku, která byla připojena na vakuum. Po protečení vzorku kolonkou, bylo aplikováno dvakrát 1 ml Wash Buffer 1, poté bylo aplikováno 75 μ l Wash Buffer 2. Specifická eluce proběhla po aplikaci 200 μ l Elution Buffer. Takto připravený vzorek byl nastříkovan na kolonu. Průběh analýzy (obr.č.13) byl kontrolován pomocí kontrolního materiálu firmy Chromsystems na dvou hladinách (25-OH-Vitamin D3/D2 Serum Control, Bi-level I,II).

Podmínky analýzy:

- Izokratická eluce, průtok mobilní fáze 0,7 ml/min
- Vlnová délka 265 nm
- Teplota analýzy 25 °C
- Nástřik vzorku 25 μ l



Obr. č. 12 – sestava HPLC



Obr. č. 13 – Záznam ze stanovení analýzy 25-OH vitamínu D₂+D₃

4.1.4 Analytická metoda stanovení 25-OH vitamínu D₃ na analyzátoru Cobas e441

Analýza vzorku:

Samotné stanovení 25-OH vitamínu D [Vitamin D₃ (25-OH)] je definováno jako pomůcka při zjišťování dostatku vitamínu D₃ u dospělých. Jedná se o kompetiční test, kdy 25-OH vitamin D₃ soutěží o vazebné místo s vitamínem D, označeným biotinem v komplexu (biotin – vitamin D/polyklonální anti-vitamin 25-OH vitamin D₃ – specifická protilátka značená rutheniem). Po přidání mikročástic potažených streptavidinem, se komplex naváže na pevnou fázi prostřednictvím interakce mezi biotinem a streptavidinem. Po inkubaci a odmytí nnavázaných složek vyvolá přivedené napětí na elektrodě chemiluminiscenční emisi fotonů, která je změřena fotonásobičem. Výsledky jsou vyhodnoceny z kalibrační křivky vytvořené specificky pro přístroj (obr.č.14) a metodu.

Sérum je stabilní 8 hodin při 18 - 25 °C, 4 dny při 2 – 8 °C, zamrazené při -20 °C vydrží až 6 měsíců. Stanovení ovlivňuje viditelná hemolýza (zvýšené výsledky).

Nevýhodou metody je použití polyklonální protilátky, což se může projevit v rozdílech mezi jednotlivými šaržemi a ve snížené přesnosti stanovení (v červnu 2010 již firma uvedla na trh soupravu s monoklonální protilátkou; tato však nebyla v této práci použita).



Obr. č. 14 – Cobas e411

4.1.4 Závěrečný komentář k optimální analýze vitamínu D

Během výběru optimální laboratorní metody jsme provedli řadu srovnávacích měření. V rámci našeho výzkumu jsme porovnali 70 patientských vzorků. Každý vzorek byl podroben analýze na výše zvoleném analyzátoru. Z tab. č.10 vyplývá, že nelze stanovovat hladiny vitamínu D u pacientů na různých analyzátozech. Jednotlivá měření jsou neporovnatelná. Je tedy při léčbě nutné dávat pozor, na čem se daná analýza v laboratoři provádí.

Každá laboratorní technika měla svá pozitiva i negativa. První dvě metodiky byly velmi náročné na čas a personální obsazení a neodpovídaly kapacitním potřebám. Poslední laboratorní technika je časově velmi dobře dostupná, nicméně jako problém se ukazuje použití polyklonální protilátky.

Pacient	HPLC	HPLC	HPLC	Cobas e411	ELISA
	D ₃ (cholecalciferol)	D ₂ (ergocalciferol)	D ₃ +D ₂		
1	104,2		104,2	114,4	123
2	71,46		71,46	93,97	84
3	31,01		31,01	46,22	37
4	66,4		66,4	69,96	67
5	86,8	8,08	94,88	61,92	95
6	36,69	48,18	84,87	53,6	120
7	97,62		97,62	66,32	104
8	86,54	10,74	97,28	67,77	78
9	87,68		87,68	58,04	101
10	58,33	16,12	74,45	53,2	55

Tab. č. 11 – Stanovení hladin vitamínu D na jednotlivých analyzátozech (ukázka části analýz)

V naší laboratoři jsme zvolili, přes všechny nevýhody, stanovení 25-OH vitamínu D₃ na analyzátoru Cobas e411. Uvědomujeme si, že stanovení HPLC patří zatím k těm nejlepším, ale není použitelné v podmínkách naší laboratoře. Má však velký význam u stanovení hladin vitamínu D (D₂ nebo D₃) u dětí.

4.2 Studie 2008

4.2.2 Materiál

Ve sledovaném jarním a podzimním období roku 2008 bylo v osteologické ambulanci ÚKBP, FN Motol vyšetřeno 125 osob (převážně městských obyvatel). Tyto osoby byly rozděleny do 5 skupin.

Každá skupina byla vyšetřena dvakrát, na jaře, v měsíci dubnu a na podzim, v měsíci říjnu. Měření probíhalo po zimním období, kdy je doba slunečního svitu minimální a po letním období, kdy je česká populace vystavena většímu počtu hodin slunečního svitu. V zimním období v měsících 12/2007 až 3/2008 byla průměrná doba slunečního svitu v Praze Ruzyni naměřena 83,5 hodiny (viz příloha č.6).

V letním období v měsících 6/08 až 9/09 byla průměrná doba slunečního svitu v Praze Ruzyni naměřena 205,5 hodiny.

U všech sledovaných osob byly změřeny základní biochemické parametry, markery osteoformace i markery kostní resorpce.

Výše sledované osoby byly zařazeny do předem určených skupin. Jednalo se celkem o pět skupin, z toho byly tři skupiny dobrovolníků.

V první skupině byli vyšetřováni muži v produktivním věku, ve druhé skupině byly vyšetřovány premenopauzální ženy, obě skupiny byly bez jakékoliv suplementace vitamínem D. Jako třetí skupina zdravých pacientů byla zvolena skupina postmenopauzálních žen bez prokázané osteoporózy a bez jakékoliv suplementace vitamínem D. Ani zdravá populace v produktivním věku nebyla suplementována vitamínem D.

Další dvě vyšetřované skupiny byly pacientky s denzitometricky prokázanou osteoporózou a skupina pacientek s denzitometricky prokázanou osteopénií. Obě skupiny, tedy jak skupina pacientek s osteoporózou, tak skupina pacientek s osteopénií byly jednotně suplementovány vitamínem D. Obě skupiny dostávaly jednotnou dávku 1000 IU/ den.

4.2.3 Metoda

Hladiny vitamínu D₃ (25- hydroxycholecalciferolu, kalcidiolu) byly stanoveny na analyzátoru Cobas e411, firmy Roche metodou ECLIA.

Získaná data byla statisticky vyhodnocena, sledované údaje byly graficky zpracovány.

4.2.4 Měření

1. Skupina č.1 - skupina mužů v produktivním věku

V této skupině bylo vyšetřeno celkem 25 mužů. Průměrný věk mužů v této skupině byl 40,3 let. Nejmladšímu muži bylo 18 let, nejstaršímu 53 let. Jednalo se o muže v plném produktivním věku a ze všech společenských vrstev, bez rozdílu povolání, fyzické aktivity a stravovacích návyků. Tito muži se nikdy neléčili s žádnou poruchou kostního metabolismu. Tito zdraví dobrovolníci nedostávali žádnou suplementaci vitamínem D. Všichni muži splňovali podmínky zařazení do této skupiny.

V jarním období byla mužům v této skupině naměřena průměrná hodnota vitamínu D₃ 47,89 nmol/l. Minimální naměřená hodnota vitamínu D byla 23,39 nmol/l a byla naměřena muži s datem narození 1973. Maximální naměřená hladina vitamínu D v měsíci dubnu byla 74,85 nmol/l a byla zjištěna u muže s datem narození 1965.

V podzimním cyklu byla průměrná hodnota vitamínu D₃ v této skupině 55,12 nmol/l. Minimální naměřená hodnota vitamínu D byla 17,64 nmol/l a byla zjištěna u muže s datem narození 1975. Maximální naměřená hladina vitamínu D v tomto období byla 96,10 nmol/l a byla zjištěna u muže s datem narození 1957.

2. Skupina č. 2 - skupina premenopauzálních žen

V této skupině bylo vyšetřeno celkem 25 premenopauzálních žen. Průměrný věk žen v této skupině byl 36,6 let. Nejmladší ženě bylo 18 let, nejstarší ženě bylo 53 let. Jednalo se o ženy v plném produktivním věku a ze všech společenských vrstev, bez rozdílu povolání, fyzické aktivity a stravovacích návyků. Tyto ženy se nikdy neléčily s žádnou poruchou kostního metabolismu. Všechny ženy měly zachován pravidelný menstruační cyklus. Tyto zdravé dobrovolnice nedostávaly žádnou suplementaci vitamínem D. Všechny ženy splňovaly podmínky zařazení do této skupiny.

V jarním období byla premenopauzálním ženám v této skupině naměřena průměrná hodnota vitamínu D₃ 51,85 nmol/l. Minimální naměřená hodnota vitamínu D byla 23,30 nmol/l a byla naměřena ženě s datem narození 1966. Maximální naměřená hladina vitamínu D₃ byla 114,80 nmol/l a byla zjištěna u ženy s datem narození 1985.

V podzimním cyklu byla v této skupině průměrná hodnota vitamínu D₃ 64,52 nmol/l. Minimální naměřená hodnota vitamínu D₃ byla 21,30 nmol/l a byla zjištěna u

ženy s datem narození 1955. Maximální naměřená hladina vitamínu D₃ v tomto období byla 129,7 nmol/l a byla zjištěna u ženy s datem narození 1985.

3. Skupina č. 3 - skupina postmenopauzálních pacientek s osteopénií

V této skupině bylo vyšetřeno celkem 25 žen s denzitometricky prokázanou osteopénií. Průměrný věk byl v této skupině 67 let. Nejmladší ženě bylo 54 let, nejstarší ženě bylo 84 let. Jednalo se o ženy ze všech společenských vrstev, bez rozdílu povolání, fyzické aktivity a stravovacích návyků. Tyto ženy byly sledovány v osteologické ambulanci pro poruchu kostního metabolismu. Na základě denzitometrického vyšetření byla u nich stanovena osteopénie. Všechny ženy v této skupině byly na jednotné suplementaci vitamínem D, a sice Vigantolem v dávce 1000 IU/den. Všechny ženy splňovaly podmínky zařazení do této skupiny.

V jarním období byla ženám v této skupině naměřena průměrná hodnota vitamínu D₃ 57,12 nmol/l. Minimální naměřená hodnota vitamínu D₃ byla 29,20 nmol/l a byla naměřena ženě s datem narození 1932. Maximální naměřená hladina vitamínu D₃ byla 92,40 nmol/l a byla zjištěna u ženy s datem narození 1949.

V podzimním období byla v této skupině průměrná hodnota vitamínu D₃ 59,88 nmol/l. Minimální naměřená hodnota vitamínu D₃ byla 33,50 nmol/l a byla zjištěna u ženy s datem narození 1924. Maximální naměřená hladina vitamínu D₃ v tomto období byla 87,20 nmol/l a byla zjištěna u ženy s datem narození 1950.

4. Skupina č. 4 – skupina postmenopauzálních žen s osteoporózou

V této skupině bylo vyšetřeno celkem 25 žen s denzitometricky prokázanou osteoporózou. Všechny pacientky byly na jednotné suplementaci vitamínem D, a sice Vigantolem (cholecalciferol) v dávce 1000 IU/den.

Průměrný věk žen v této skupině byl 69,08 let. Nejmladší ženě bylo 56 let, nejstarší ženě v této skupině bylo 86 let. Jednalo se o postmenopauzální ženy, ze všech společenských vrstev, bez rozdílu povolání, fyzické aktivity a stravovacích návyků. Tyto ženy byly sledovány v osteologické ambulanci pro poruchu kostního metabolismu. Na základě denzitometrického vyšetření byla u nich stanovena osteoporóza. Zároveň byly tyto ženy léčeny jednotnou antiresorpční léčbou (Acidum alendronicum, 1x týdně per os). Všechny ženy splňovaly podmínky zařazení do této skupiny.

V jarním období byla ženám v této skupině naměřena průměrná hodnota vitamínu D₃ 64,58 nmol/l. Minimální naměřená hodnota vitamínu D₃ byla 36,10 nmol/l a byla naměřena ženě s datem narození 1946. Maximální naměřená hladina vitamínu D₃ v měsíci dubnu byla 104,70 nmol/l a byla zjištěna u ženy s datem narození 1926.

V podzimním období byla v této skupině zjištěna průměrná hodnota vitamínu D₃ 63,78 nmol/l. Minimální naměřená hodnota vitamínu D₃ byla 49,40 nmol/l a byla zjištěna u ženy s datem narození 1951. Maximální naměřená hladina vitamínu D₃ v tomto období byla 88,50 nmol/l a byla zjištěna u ženy s datem narození 1952.

5. Skupina č. 5 - skupina postmenopauzálních žen bez osteoporózy a bez léčby vitamínem D

V této skupině bylo vyšetřeno celkem 25 žen bez prokázané poruchy kostního metabolismu. Průměrný věk žen v této skupině byl 63,29 let. Nejmladší ženě bylo 52 let, nejstarší ženě v této skupině bylo 72 let. Jednalo se o postmenopauzální ženy, ze všech společenských vrstev, bez rozdílu povolání, fyzické aktivity a stravovacích návyků. Jednalo se o ženy zdravé, náhodně vybrané. Všechny ženy splňovaly podmínky zařazení do této skupiny.

V jarním období byla v této skupině naměřena průměrná hodnota vitamínu D₃ 45,16 nmol/l. Minimální naměřená hodnota vitamínu D₃ byla 16,84 nmol/l a byla naměřena ženě s datem narození 1953. Maximální naměřená hladina vitamínu D₃ v měsíci dubnu byla 84,36 nmol/l a byla zjištěna u ženy s datem narození 1946.

V podzimním období byla průměrná hodnota vitamínu D₃ v této skupině 55,97 nmol/l. Minimální naměřená hodnota vitamínu D₃ byla 28,65 nmol/l a byla zjištěna u ženy s datem narození 1951. Maximální naměřená hladina vitamínu D₃ v tomto období byla 88,00 nmol/l a byla zjištěna u ženy s datem narození 1943.

4.3 Studie 2009

4.3.2 Materiál

Ve sledovaném období roku – leden 2009, říjen-listopad 2009 a leden 2010 bylo v osteologické ambulanci ÚKBP, 2.LF UK a FN Motol vyšetřeno celkem 270 postmenopauzálních, převážně městských žen. Tyto ženy byly rozděleny do 6 skupin.

Každá skupina byla vyšetřena celkem třikrát, v lednu 2009. Další kontrola proběhla v měsících říjen a listopad. Poslední měření proběhlo v lednu 2010. V lednu 2009 byla doba slunečního svitu v Praze 38,6 hodiny, v měsících říjnu a listopadu to bylo 81,7, resp. 56,7 hodiny. Poslední měření proběhlo v lednu 2010 a doba slunečního svitu byla 35,0 hodiny viz příloha č.6).

U všech ze sledovaných osob byly změřeny základní biochemické parametry, markery osteoformace, markery osteoresorpce a hladiny vitamínu D₃ (25(OH)D₃).

4.3.2 Metoda

Hladiny vitamínu D₃ (cholecalciferolu) byly stanoveny na analyzátoru Cobas e411, firma Roche, metodou ECLIA. Získaná data byla statisticky vyhodnocena.

4.3.3 Měření

Skupina č. 1 – pacientky s osteopénií na léčbě Vigantolem (cholecalciferol)

V této skupině bylo vyšetřeno celkem 45 pacientek s průměrným věkem 64,8 roku. Nejmladší ženě v této skupině bylo 51 let, nejstarší ženě pak bylo 86 let.

Všechny pacientky měly denzitometricky prokázanou osteopénií. Všechny pacientky dostávaly suplementaci Vigantolem v dávce 1000 IU/den a splňovaly podmínky pro zařazení.

V lednu 2009 byla u těchto pacientek zjištěna průměrná hladina vitamínu D₃ 43,2 nmol/l. Minimální hladina v tomto období byla 23 nmol/l a byla naměřena pacientce s datem narození 1942. Maximální hladina vitamínu D₃ byla naměřena pacientce s datem narození 1959 a činila 71,8 nmol/l.

V podzimním období, v měsících říjen – listopad, 2009 byla pacientkám v této skupině naměřena průměrná hladina vitamínu D₃ 64,14 nmol/l. Minimální hladina v tomto období činila 31,2 nmol/l a byla naměřena pacientce s datem narození 1959.

Maximální hladina vitamínu D₃ byla v měsících říjen – listopad 2009 naměřena pacientce s datem narození 1953 a činila 96,8 nmol/l.

V lednu 2010 byla těmto pacientkám naměřena průměrná hladina vitamínu D₃ 35,61 nmol/l. Minimální hladina v tomto období byla 10,0 nmol/l a byla naměřena pacientce s datem narození 1955. Maximální hladina vitamínu D₃ byla naměřena pacientce s datem narození 1924 a činila 65,8 nmol/l. Jednalo se zároveň o nejstarší pacientku v této skupině.

Skupina č. 2 – pacientky s osteopénií na léčbě Vigantolem (cholecalciferol) a Calcichew (Calcii carbonas 1,25 g a cholecalciferol 200 IU)

V této skupině bylo vyšetřeno celkem 40 pacientek, jejich průměrný věk byl 65,6 roku. Nejmladší ženě v této skupině bylo 55 let, nejstarší ženě pak bylo 88 let. Všechny pacientky měly denzitometricky prokázánu osteopénií. Všechny pacientky dostávaly suplementaci Vigantolem v dávce 1000 IU/den a léčbu Calcichew v dávce 1 tbl denně (cholecalciferol 200 IU/den). Celkový příjem vitamínu D (25(OH)D₃) činil 1200 IU/den. U všech pacientek byly splněny podmínky pro zařazení do studie.

V lednu 2009 byla u těchto pacientek zjištěna průměrná hladina vitamínu D₃ 48 nmol/l. Minimální hladina v tomto období byla 10,0 nmol/l a byla u pacientky s datem narození 1936. Maximální hladina vitamínu D₃ byla naměřena pacientce s datem narození 1946 a činila 75,7 nmol/l.

V podzimním období, v měsících říjen – listopad, 2009 byla pacientkám v této skupině naměřena průměrná hladina vitamínu D₃ 67,02 nmol/l. Minimální hladina vitamínu D₃ v tomto období činila 33,8 nmol/l a byla naměřena pacientce s datem narození 1948. Maximální hladina vitamínu D₃ byla naměřena pacientce s datem narození 1944 a činila 108,4 nmol/l.

V lednu 2010 byla těmto pacientkám naměřena průměrná hladina vitamínu D₃ 39,14 nmol/l. Minimální hladina v tomto období byla 10,0 nmol/l a byla naměřena pacientce s datem narození 1948. Je velmi zajímavé, že se jedná o tutéž pacientku, která nesplňovala optimální, natož dostatečnou hladinu vitamínu D₃ ani při podzimní analýze. Maximální hladina vitamínu D₃ byla naměřena pacientce s datem narození 1953 a činila 70,9 nmol/l.

**Skupina č. 3 – pacientky s osteoporózou na léčbě Vigantolem (cholecalciferol)
a alendronatem (Acidum alendronicum 70 mg)**

V této skupině bylo vyšetřeno celkem 40 pacientek s průměrným věkem 70,36 roku. Nejmladší ženě v této skupině bylo 46 let, nejstarší ženě pak bylo 87 let. Všechny pacientky měly denzitometricky prokázánu osteoporózu. Všechny pacientky byly léčeny bisfosfonáty (Acidum alendronicum 70mg, 1x týdně per os) a dostávaly suplementaci Vigantolem v dávce 1000 IU/den. Všechny pacientky splňovaly podmínky pro zařazení do studie.

V lednu 2009 byla těmto pacientkám naměřena průměrná hladina vitamínu D₃ 44,87 nmol/l. Minimální zjištěná hladina byla 12,5 nmol/l a byla naměřena pacientce s datem narození 1936. Maximální hladina vitamínu D₃ byla v lednu 2009 naměřena pacientce s datem narození 1923 a činila 86,6 nmol/l.

V podzimním období, v měsících říjen – listopad, 2009 byla pacientkám v této skupině naměřena průměrná hladina vitamínu D₃ 65,01 nmol/l. Minimální hladina v tomto období činila 33,2 nmol/l a byla naměřena pacientce s datem narození 1934. Maximální hladina vitamínu D byla v měsících říjen – listopad 2009 naměřena pacientce s datem narození 1944 a činila 108,4 nmol/l.

V lednu 2010 byla těmto pacientkám naměřena průměrná hladina vitamínu D₃ 36,99 nmol/l. Minimální hladina v tomto období byla 10,0 nmol/l u pacientky s datem narození 1940. Maximální hladina vitamínu D₃ byla v lednu 2010 naměřena pacientce s datem narození 1950 a činila 75,4 nmol/l.

**Skupina č. 4 – pacientky s osteoporózou na léčbě Vigantolem (cholecalciferol)
a Bonvivou (Acidum ibandronicum)**

V této skupině bylo vyšetřeno celkem 45 pacientek, jejich průměrný věk byl 64,41 roku. Nejmladší ženě v této skupině bylo 51 let, nejstarší ženě pak bylo 86 let. Všechny pacientky měly denzitometricky prokázánu osteoporózu. Všechny pacientky byly léčeny bisfosfonáty (Acidum ibandronicum, 1x měsíčně per os) a dostávaly suplementaci Vigantolem v dávce 1000 IU/den. Všechny pacientky splňovaly zařazení do studie.

V lednu 2009 byla v této skupině zjištěna průměrná hladina vitamínu D₃ 48,76 nmol/l. Minimální hladina vitamínu D₃ v tomto období byla 10,0 nmol/l a byla

naměřena pacientce s datem narození 1936. Maximální hladina vitamínu D₃ byla v lednu 2009 naměřena pacientce s datem narození 1930 a činila 90,9 nmol/l.

V podzimním období, v měsících říjen – listopad, 2009 byla pacientkám v této skupině naměřena průměrná hladina vitamínu D₃ 71,03 nmol/l. Minimální hladina vitamínu D₃ v tomto období činila 30,4 nmol/l a byla naměřena pacientce s datem narození 1947. Maximální hladina vitamínu D₃ byla v měsících říjen – listopad 2009 naměřena pacientce s datem narození 1944 a činila 106,4 nmol/l.

V lednu 2010 byla průměrná hladina vitamínu D₃ 42,13 nmol/l. Minimální hladina vitamínu D₃ v tomto období byla 10,0 nmol/l a byla u pacientky s datem narození 1947. Jednalo se o tutéž pacientku, které byla prokázána minimální naměřená hladina vitamínu D₃ ve sledované skupině i v podzimních měsících 2009. Maximální hladina vitamínu D₃ byla v lednu 2010 naměřena pacientce s datem narození 1930 a činila 80 nmol/l. I zde je zajímavý fakt, že se jednalo o pacientku, která dosahovala nejvyšších naměřených hodnot ve sledované skupině i v lednu 2009

Skupina č. 5 – pacientky s osteoporózou na léčbě Vigantolem (cholecalciferol) a Fosavance (Acidum alendronicum 70mg + cholecalciferol 2800 IU)

V této skupině bylo vyšetřeno celkem 45 pacientek, všechny splňovaly podmínky pro zařazení, jejich průměrný věk byl 66,6 roku. Nejmladší ženě v této skupině bylo 42 let, nejstarší ženě pak bylo 79 let. Všechny pacientky měly denzitometricky prokázanou osteoporózu. Všechny pacientky byly léčeny bisfosfonáty (Acidum alendronicum 70 mg, cholecalciferol 2800 IU, 1x týdně per os). Jejich suplementace byla Vigantolem (cholecalciferol) v dávce 1000 IU/den + 400 IU cholecalciferol /den v kombinovaném preparátu Fosavance. Celková dávka podaného cholecalciferolu byla 1400 IU/den.

V lednu 2009 byla těmto pacientkám naměřena průměrná hladina vitamínu D₃ 43,53 nmol/l. Minimální hladina v tomto období byla 10,0 nmol/l a byla naměřena pacientce s datem narození 1947. Maximální hladina vitamínu D₃ byla naměřena pacientce s datem narození 1931 a činila 83,5 nmol/l.

V podzimním období, v měsících říjen – listopad, 2009 byla pacientkám v této skupině zjištěna průměrná hladina vitamínu D₃ 58,51 nmol/l. Minimální hladina v tomto období činila 10,0 nmol/l a byla naměřena pacientce s datem narození 1937. Maximální

hladina vitamínu D byla v měsících říjen – listopad 2009 naměřena pacientce s datem narození 1953 a činila 96,9 nmol/l.

V lednu 2010 byla těmto pacientkám naměřena průměrná hladina vitamínu D₃ 39,85 nmol/l. Minimální hladina v tomto období byla 10,0 nmol/l u pacientky s datem narození 1950. Maximální hladina vitamínu D₃ byla v lednu 2010 naměřena pacientce s datem narození 1937 a činila 70,8 nmol/l.

Skupina č. 6 – pacientky s osteoporózou na léčbě Fosavance (Acidum alendronicum 70 mg + cholekalciferol 2800 IU)

V této skupině bylo vyšetřeno celkem 55 pacientek, všechny splňovaly podmínky pro zařazení, jejich průměrný věk byl 69,2 roku. Nejmladší ženě v této skupině bylo 55 let, nejstarší ženě pak bylo 82 let. Všechny pacientky měly denzitometricky prokázánu osteoporózu. Všechny pacientky byly léčeny kombinovaným preparátem Fosavance (Acidum alendronicum 70 mg+ cholekalciferol 2800 IU). Jejich příjem cholekalciferolu byl 400 IU/den.

V lednu 2009 byla u těchto pacientek zjištěna průměrná hladina vitamínu D₃ 53,01 nmol/l. Minimální hladina vitamínu D₃ byla 25,9 nmol/l a byla naměřena pacientce s datem narození 1943. Maximální hladina vitamínu D₃ byla v lednu 2009 naměřena pacientce s datem narození 1927 a činila 105,4 nmol/l.

V podzimním období, v měsících říjen - listopad 2009 byla pacientkám v této skupině zjištěna průměrná hladina vitamínu D₃ 72,46 nmol/l. Minimální hladina vitamínu D₃ v tomto období činila 37,7 nmol/l a byla naměřena pacientce s datem narození 1941. Maximální hladina vitamínu D₃ byla v měsících říjen – listopad 2009 naměřena pacientce s datem narození 1941 a činila 162,6 nmol/l.

V lednu 2010 byla průměrná hladina vitamínu D₃ 44,95 nmol/l. Minimální hladina vitamínu D₃ v tomto období byla 21,4 nmol/l a byla naměřena pacientce s datem narození 1941. Maximální hladina vitamínu D₃ byla v lednu 2010 naměřena pacientce s datem narození 1932 a činila 102,2 nmol/l.

5 Výsledky

5.1 Výsledky studie 2008

Hodnota vitamínu D₃ (25 - hydroxycholecalciferolu) menší než 50 nmol/l je hodnocena jak o vitamin D-deficienci. Tyto hodnoty jsou nedostatečné pro správnou mineralizaci kosti a mohou vést ke zvýšené sekreci PTH.

Pokles koncentrace vitamínu D₃ pod 30 nmol/l vede k poklesu svalové síly.

V současné době nejsou striktně doporučené referenční hodnoty pro tento analyt. Přesto se za dolní limit doporučeného rozmezí pro vitamin D₃ udává hodnota 50-80 nmol/l. V literatuře nalezneme referenční rozmezí pro tento analyt 80 – 250 nmol/l (84).

Dosahují těchto doporučených hladin pacienti v námi sledovaných skupinách?

Skupina č. 1 – skupina mužů v produktivním věku

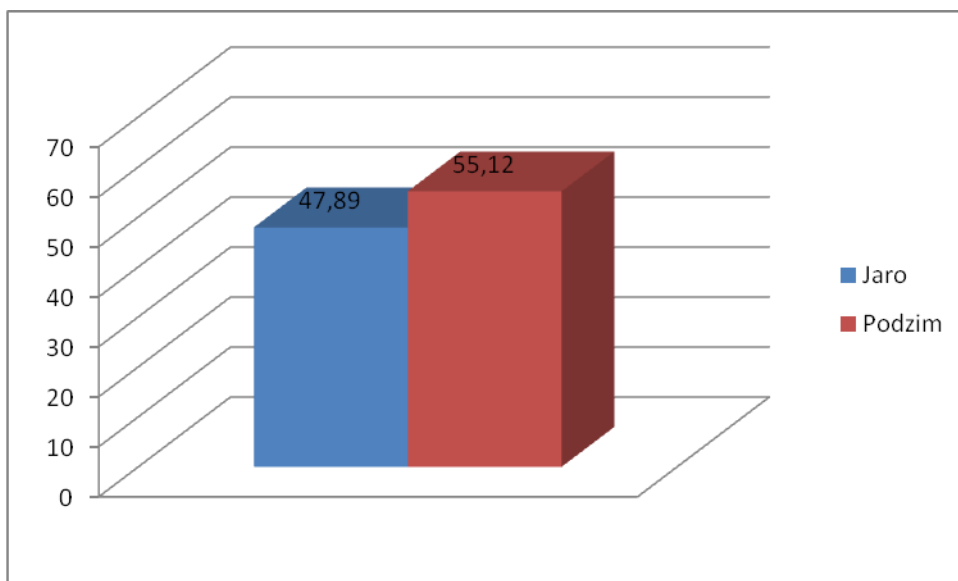
Ve skupině č.1 (viz graf č.1) nebyl nalezen statisticky signifikantní rozdíl v hladinách vitamínu D₃ mezi jarním a podzimním obdobím. Průměrná hladina vitamínu D₃ v jarním období byla naměřena 47,89 nmol/l. V podzimním období byla v této skupině mužů v produktivním věku naměřena průměrná hladina vitamínu D₃ 55,12 nmol/l. Rozdíly mezi oběma hodnotami v této sledované skupině jsou statisticky nevýznamné. Přesto po letních měsících došlo k mírnému nárůstu hladin vitamínu D₃.

V jarním období skupina mužů nedosáhla minimální doporučené hladiny vitamínu D₃ (50 nmol/l). V podzimním období skupina mužů v průměru dosáhla doporučené minimální hladiny vitamínu D₃(tab.č.12). Zarážející jsou minimální hladiny vitamínu D₃ v jarním i podzimním období v závislosti na nízkém věku vyšetřovaných mužů. Minimální hladina vitamínu D₃ byla v jarním období naměřena muži s rokem narození 1973, v roce 2008 se jednalo o muže 35letého. Hladina vitamínu D₃ u tohoto muže činila 23,39 nmol/l. Jednalo se o hladinu hluboko pod doporučenou dolní hranici referenčního rozmezí.

Minimální hladina vitamínu D₃ byla v podzimním období naměřena muži s rokem narození 1975, v roce 2008 se jednalo o muže 33letého. Hladina vitamínu D₃ u tohoto muže činila 17,64 nmol/l. Opět se jednalo o hladinu vitamínu D₃ hluboko pod doporučenou dolní hranici referenčního rozmezí.

	Jaro	Podzim
Minimální hladina vit. D ₃	23,39 nmol/l (1975)	17,64 nmol/l (1975)
Maximální hladina vit. D ₃	74,85 nmol/l (1965)	96,10 nmol/l (1957)
Průměrná hladina vit. D ₃	47,89 nmol/l	55,12 nmol/l

Tab.č. 12 – hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období - skupina č. 1 – muži v produktivním věku



Graf č. 1 – hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období - skupina č. 1 – muži v produktivním věku

2. Skupina č. 2 - skupina premenopauzálních žen

Ve skupině premenopauzálních žen bez jakékoliv medikace (viz graf č.2) byla prokázána statisticky významná odchylka ($p = 0,013$) v hladinách vitamínu D₃ mezi jarním a podzimním obdobím. Průměrná hladina vitamínu D₃ v jarním období byla naměřena 51,85 nmol/l. V podzimním období byla v této skupině premenopauzálních žen v produktivním věku naměřena průměrná hladina vitamínu D₃ 64,52 nmol/l. V jarním i podzimním období skupina premenopauzálních žen dosáhla v průměru minimální doporučené hladiny vitamínu D₃ (50 nmol/l).

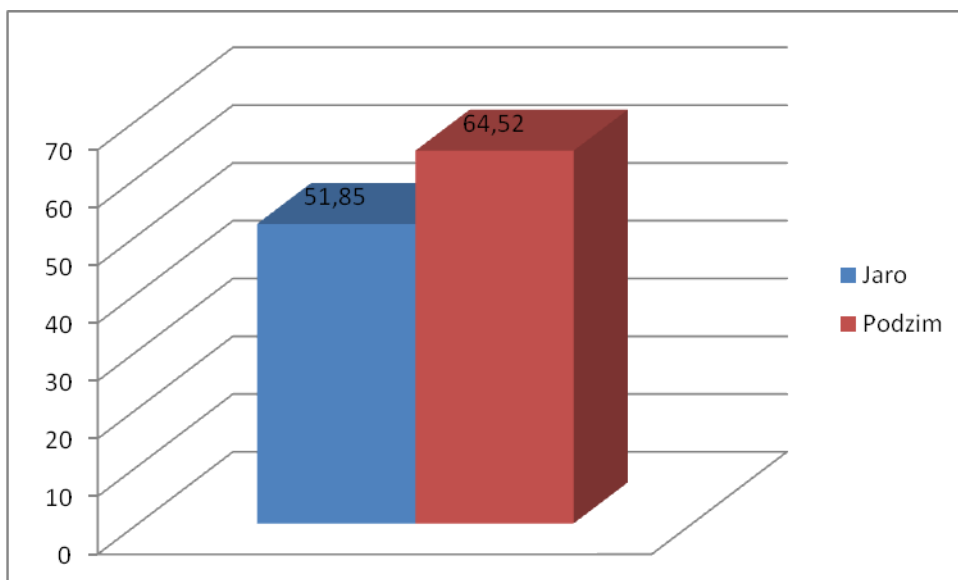
Přesto i zde jsou varující nalezené minimální hodnoty hladin vitamínu D₃ v jarním a podzimním období a věk vyšetřovaných žen. Minimální hladina vitamínu D₃ byla v jarním období naměřena ženě s rokem narození 1966, v roce 2008 se jednalo o ženu 42letou. Hladina vitamínu D₃ u této ženy činila 23,30 nmol/l. Jde tedy o hladinu vitamínu D₃ hluboko pod doporučenou minimální hodnotou (50 nmol/l) (viz tab.č.13).

Minimální hladina vitamínu D₃ byla v podzimním období naměřena ženě s rokem narození 1955, v roce 2008 se jednalo o ženu 53letou. Hladina vitamínu D₃ u této ženy činila 21,30 nmol/l. Jednalo se o hladinu vitamínu D₃ hluboko pod doporučenou dolní hranici referenčního rozmezí.

Jsou tyto ženy rizikovou skupinou pro časnou osteoporózu po menopauze?

	Jaro	Podzim
Minimální hladina vit. D ₃	23,30 nmol/l (1966)	21,30 nmol/l (1955)
Maximální hladina vit. D ₃	114,80 nmol/l (1985)	129,7 nmol/l (1985)
Průměrná hladina vit. D ₃	51,85 nmol/l	64,52 nmol/l

Tab.č.13 - hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období - skupina č. 2 - skupina premenopuzálních žen



Graf č. 2 – hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období - skupina č. 2 - skupina premenopuzálních žen

3. Skupina č. 3 – skupina postmenopuzálních pacientek s osteopénií

Ve skupině pacientek s osteopénií (viz graf č.3) nebyla prokázána statisticky významná odchylka ($p=0,05$) v hladinách vitamínu D₃ mezi jarním a podzimním obdobím.

Ačkoliv průměrná hodnota hladin vitamínu D₃ je u těchto pacientek dostačující a v obou sledovaných obdobích dosahují dolní hranice doporučeného referenčního rozmezí, přesto se nepohybuje v optimálních hladinách.

Průměrná hladina vitamínu D₃ v této skupině pacientek byla v jarním období naměřena 57,12 nmol/l. V podzimním období byla v této skupině zjištěna průměrná hladina vitamínu D₃ 59,88 nmol/l.

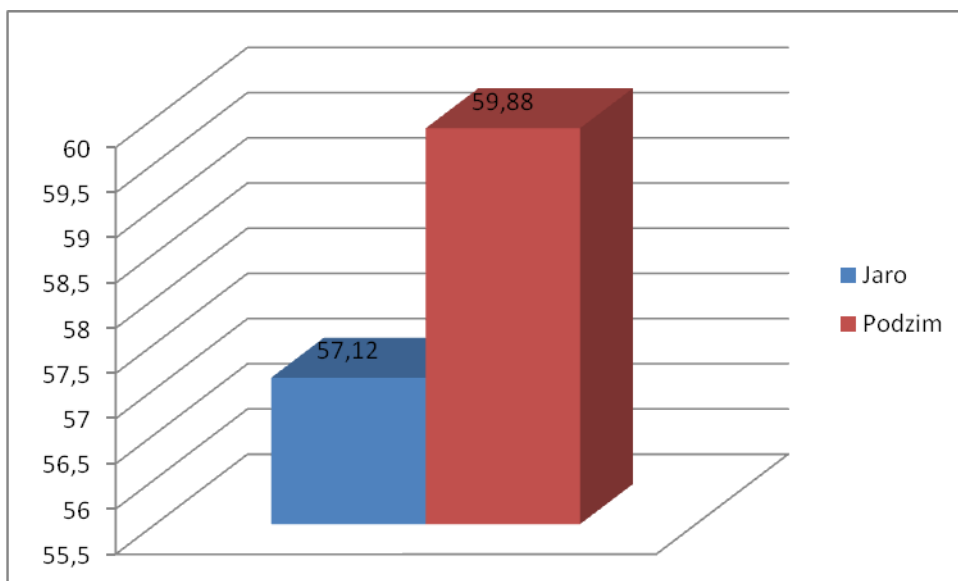
Přesto i zde jsou varující nalezené minimální hodnoty hladin vitamínu D₃ v jarním a podzimním období. Minimální hladina vitamínu D₃ byla v jarním období naměřena ženě s rokem narození 1932, v roce 2008 se jednalo o ženu 76letou. Hladina vitamínu D₃ u této ženy činila 29,20 nmol/l. Jednalo se o hladinu vitamínu D₃ hluboko pod doporučenou dolní hranici referenčního rozmezí (viz tab.č.14)

Minimální hladina vitamínu D₃ byla v podzimním období naměřena ženě s rokem narození 1924, v roce 2008 se jednalo o ženu 84letou. Hladina vitamínu D₃ u této ženy činila 33,50 nmol/l. Jednalo se o hladinu vitamínu D₃ hluboko pod doporučenou dolní hranici referenčního rozmezí.

Je třeba si však uvědomit, že všechny tyto pacientky byly na suplementaci 1000 IU/den, tedy na dávce, která byla vyšší, než byla v roce 2008 dávka doporučená (doporučená dávka pro postmenopauzální ženy s osteopénií se pohybovala mezi 400 až 800 IU/den v závislosti na literatuře). Vystává tedy otázka, jaká je optimální suplementace pro postmenopauzální ženy bez zatím prokázané osteoporózy. A také, zda sledované ženy tento lék správně užívaly. Poslední nezodpovězenou otázkou je, zda absorbance tohoto léku u těchto žen byla optimální.

	Jaro	Podzim
Minimální hladina vit. D ₃	29,20 nmol/l (1932)	33,50 nmol/l (1924)
Maximální hladina vit. D ₃	92,40 nmol/l (1949)	87,20 nmol/l (1950)
Průměrná hladina vit. D ₃	57,12 nmol/l	59,88 nmol/l

Tab.č. 14 – hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období - skupina č. 3 - postmenopauzální pacientky s osteopénií



Graf č. 3 – hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období - skupina č. 3 - postmenopauzální pacientky s osteopénií

4. Skupina č. 4 – skupina postmenopauzálních žen s osteoporózou

Ve skupině postmenopauzálních žen s osteoporózou (viz graf č.4) nebyla prokázána statisticky významná odchylka ($p = 0,05$) v hladinách vitamínu D₃ mezi jarním podzimním obdobím. Všechny pacientky byly na jednotné suplementaci vitamínem D₃ v dávce 1000 IU/den. Průměrná hladina vitamínu D₃ byla odlišná od ostatních sledovaných skupin a pohybovala se v obou sledovaných obdobích ve vyšších hladinách.

Minimální hladina vitamínu D₃ byla v jarním období naměřena ženě s datem narození 1946, v roce 2008 se jednalo o ženu 62letou. Hladina vitamínu D₃ u této ženy činila 36,10 nmol/l. Ani zde nebylo dosaženo doporučené dolní hranici referenčního rozmezí pro vitamin D₃ (viz tab.č.15)

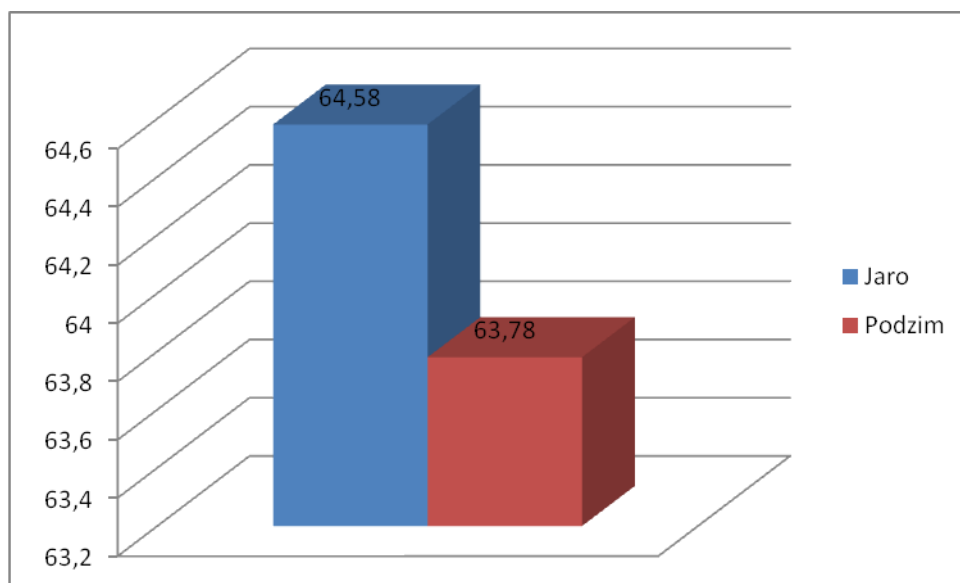
Minimální hladina vitamínu D₃ byla v podzimním období naměřena ženě s rokem narození 1951, v roce 2008 se jednalo o ženu 57letou. Hladina vitamínu D₃ u této ženy činila 49,40 nmol/l. Jednalo se o hladinu vitamínu D₃ na dolní hranici referenčního rozmezí.

Z grafu č.4 vyplývá ale jiná skutečnost. Průměrné hodnoty vitamínu D₃ jsou u této skupiny na jaře vyšší než na podzim, byť rozdíl není statisticky významný. Nalézáme zde přesně opačný jev, než by se dal očekávat. Nicméně zpětnou analýzou se

zjistilo, že šlo o změnu chování pacientek. Jednalo se o pacientky velmi dobře orientované a edukované v oblasti léčby a prevence osteoporózy. Tyto pacientky měly sklon k úpravě diety a dodržování substituce vitamínu D. V zimě tuto substituci dodržovaly, zatímco v létě, v době vysokého slunečního svitu, od užívání Vigantolu (cholecalciferol) většinou upustily.

	Jaro	Podzim
Minimální hladina vit. D ₃	36,10 nmol/l (1946)	49,40 nmol/l (1951)
Maximální hladina vit. D ₃	104,70 nmol/l (1926)	88,50 nmol/l (1951)
Průměrná hladina vit. D ₃	64,58 nmol/l	63,78 nmol/l

Tab.č. 15 – hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období - skupina č. 4 - postmenopauzální ženy s osteoporózou



Graf č. 4 - hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období - skupina č. 4 - postmenopauzální ženy s osteoporózou

5. Skupina č. 5 - skupina postmenopauzálních žen bez osteoporózy a bez léčby vitamínem D

Ve skupině postmenopauzálních žen bez osteoporózy a bez léčby (viz graf č. 5) byla prokázána statisticky významná odchylka ($p=0,018$) v hladinách vitamínu D₃ mezi jarním a podzimním obdobím.

V jarním období skupina postmenopauzálních žen bez osteoporózy a bez léčby nedosáhla minimální doporučené hladiny vitamínu D₃ (50 nmol/l). V podzimním období skupina postmenopauzálních žen bez osteoporózy a bez léčby v průměru dosáhla doporučené minimální hladiny vitamínu D₃.

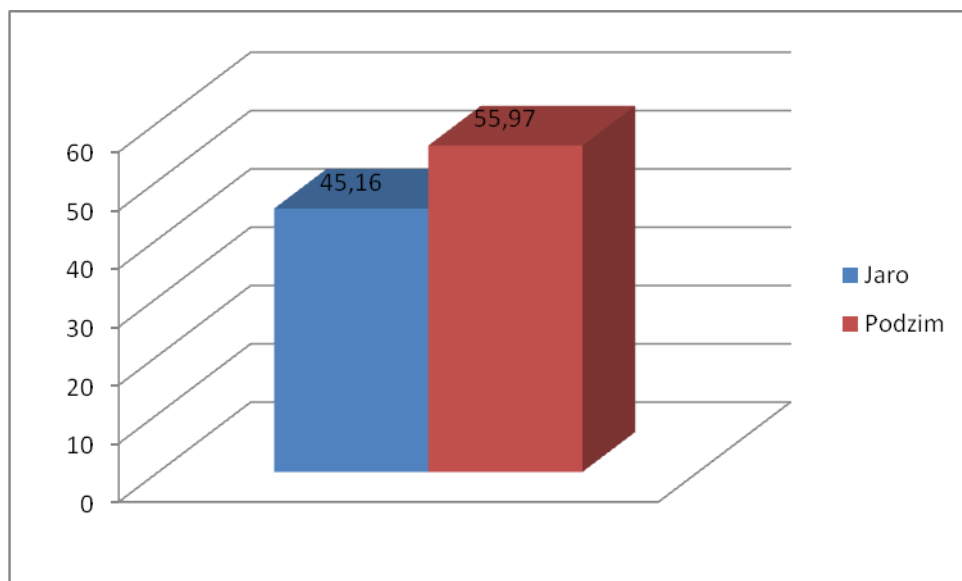
Minimální hladina vitamínu D₃ byla v jarním období naměřena ženě s datem narození 1953, v roce 2008 se jednalo o ženu 55letou. Hladina vitamínu D₃ u této ženy činila 16,84 nmol/l. Ani zde nebylo dosaženo doporučené dolní optimální hladiny pro vitamín D₃ (viz tab.č.16)

Minimální hladina vitamínu D₃ byla v podzimním období naměřena ženě s rokem narození 1951, v roce 2008 se jednalo o ženu 57letou. Hladina vitamínu D₃ u této ženy činila 28,65 nmol/l. A opět zde nebylo dosaženo doporučené dolní optimální hladiny pro vitamín D₃. A i v této skupině se nalézají varující, až alarmující minimální hodnoty hladin vitamínu D₃ jak v jarním, tak i v podzimním období.

Minimální hladiny vitamínu D₃ byly naměřeny ženám v produktivním věku (1953, 1951). Těmto ženám naše zdravotnictví pozornost nevěnuje vůbec, protože nespĺňují kritéria pro léčbu osteoporózy. Přesto už tuto skupinu nazvat rizikovou lze, protože se jedná o ženy s deficitem vitamínu D₃ a s menopauzou.

	Jaro	Podzim
Minimální hladina vit. D ₃	16,84 nmol/l (1951)	28,65 nmol/l (1951)
Maximální hladina vit. D ₃	84,36 nmol/l (1946)	88,00 nmol/l (1943)
Průměrná hladina vit. D ₃	45,16 nmol/l	55,97 nmol/l

Tab.č. 16 – hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období - skupina č. 5 - postmenopauzální ženy bez osteoporózy a bez léčby vitamínem D



Graf č. 5 – hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období - skupina č. 5 - postmenopauzální ženy bez osteoporózy a bez léčby vitamínem D

5.2 Výsledky studie 2009

Již ve studii v roce 2008 bylo prokázáno, že deficitem vitamínu D trpí nejen starší populace, ale i populace v produktivním věku.

V roce 2009 jsme se zaměřili již pouze na pacientky s poruchou kostního metabolismu, a sice s osteopénií či prokázanou osteoporózou. Všechny pacientky byly suplementovány vitamínem D, téměř vždy dávkou vyšší, než je doporučovaná pro českou populaci. Pacientky nedostávaly jinou substituci vitamínem D a jídelníček odpovídal běžné racionální stravě.

A otázka byla, zda doporučená substituce vitamínem D₃ je plně postačující pro již sledované pacientky s poruchou kostního metabolismu.

1. Skupina č. 1/2009 – pacientky s osteopénií na léčbě Vigantolem (cholekalCIFerol)

V této skupině bylo vyšetřeno celkem 45 pacientek, u kterých byla denzitometricky prokázána osteopénie. Všechny tyto pacientky byly na jednotné suplementaci vitamínu D₃ (cholekalCIFerol). Pacientky dostávaly suplementaci Vigantolem v dávce 1000 IU/den.

Pacientkám byly naměřeny hladiny vitamínu D₃ v lednu 2009, v období říjen až listopad 2009 a v lednu roku 2010 (viz graf č.6).

Pacientky z této sledované skupiny nesplňovaly v zimním období doporučenou minimální hladinu vitamínu D₃ (50 nmol/l). V podzimním období tyto pacientky dosáhly v průměru uspokojivých hladin vitamínu D₃.

Minimální hladina vitamínu D₃ byla v lednu 2009 naměřena pacientce s rokem narození 1942. Hladina vitamínu D₃ u této ženy činila 23,0 nmol/l. U této pacientky nebylo dosaženo doporučené dolní hranice (viz tab.č.17)

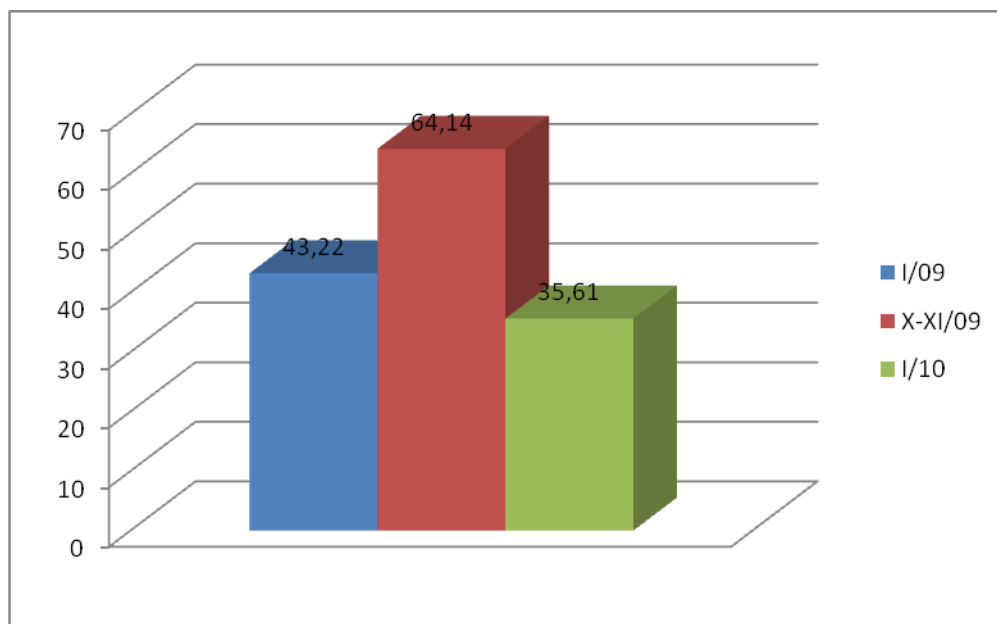
Minimální hladina vitamínu D₃ byla v podzimním období, říjen – listopad 2009, naměřena ženě s rokem narození 1959. Hladina vitamínu D₃ u této ženy činila 31,2 nmol/l. A opět zde nebylo dosaženo doporučené dolní hranici referenčního rozmezí pro vitamin D₃.

Minimální hladina vitamínu D₃ byla v lednu 2010 naměřena pacientce s rokem narození 1955. Hladina vitamínu D₃ u této ženy činila 10,0 nmol/l. U této pacientky nebylo dosaženo doporučené dolní hranici referenčního rozmezí pro vitamin D₃

Mezi lednem 2009 a podzimem 2009 byla prokázána statisticky významná odchylka ($p < 0,05$) v hladinách vitamínu D₃. Stejná statisticky významná odchylka ($p < 0,05$) v hladinách vitamínu D₃ byla prokázána i mezi sledovaným obdobím podzim 2009 a leden 2010. Nebyla prokázána žádná statisticky významná odchylka mezi měřenými obdobími leden 2009 a leden 2010.

	I/2009	X-XI/2009	I/2010
Minimální hladina vitamínu D ₃	23 nmol/l (1942)	31,2 nmol/l (1959)	10 nmol/l (1955)
Maximální hladina vitamínu D ₃	71,8 nmol/l (1959)	96,8 nmol/l (1953)	65,8 nmol/l (1924)
Průměrná hladina vitamínu D ₃	43,22 nmol/l	64,14 nmol/l	35,61 nmol/l

Tab. č. 17 - Minimální a maximální koncentrace vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období - skupina č. 1/2009 - pacientky s osteopénií na léčbě Vigantolem (cholecalciferol)



Graf.č. 6 - hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období - skupina č. 1/2009 - pacientky s osteopénií na léčbě Vigantolem (cholecalciferol)

2. Skupina č. 2/2009 – pacientky s osteopénií na léčbě Vigantolem (cholecalciferol) a Calcichew (Calcii carbonas 1,25 g a cholecalciferol 200 IU)

V této skupině bylo vyšetřeno celkem 40 pacientek, u kterých byla denzitometricky prokázána osteopénié. Všechny pacientky byly na jednotné suplementaci vitamínu D₃ Vigantol (cholecalciferol) v dávce 1000 IU/den + Calcichew (Calcii carbonas 1,25 g a cholecalciferol 200 IU) v dávce 200 IU/den. Jejich celkový příjem vitamínu D₃ byl 1200 IU/den.

Pacientkám byly naměřeny hladiny vitamínu D₃ v lednu 2009, v období říjen až listopad 2009 a v lednu roku 2010.

Pacientky z této sledované skupiny nesplňovaly v zimním období doporučenou minimální hladinu vitamínu D₃. V podzimním období pak tyto pacientky dosáhly uspokojivých hladin vitamínu D₃.

Minimální hladina vitamínu D₃ byla v lednu 2009 naměřena pacientce s rokem narození 1936. Hladina vitamínu D₃ u této ženy činila 10,0 nmol/l. (viz tab.č.18)

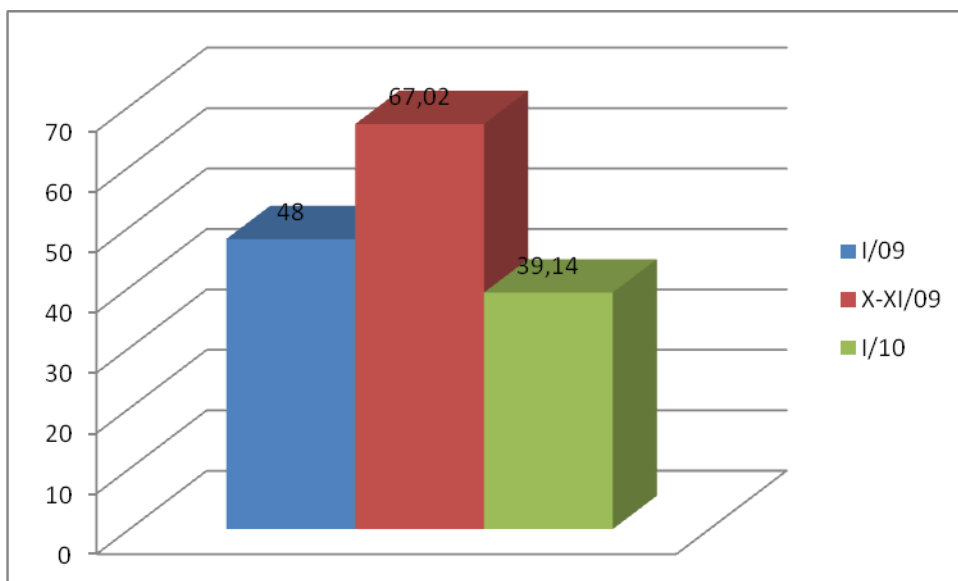
Minimální hladina vitamínu D₃ byla v podzimním období, říjen – listopad 2009, naměřena ženě s rokem narození 1948. Hladina vitamínu D₃ u této ženy činila 33,8 nmol/l. A opět zde nebylo dosaženo doporučené dolní hranici referenčního rozmezí pro vitamin D₃.

Minimální hladina vitamínu D₃ byla v lednu 2010 naměřena pacientce s rokem narození 1948. Hladina vitamínu D₃ u této ženy činila 10,0 nmol/l. Ani u této pacientky nebylo dosaženo doporučené dolní hranici referenčního rozmezí pro vitamin D₃

Mezi lednem 2009 a podzimem 2009 byla prokázána statisticky významná odchylka ($p < 0,05$) v hladinách vitamínu D₃. Stejná statisticky významná odchylka ($p < 0,05$) v hladinách vitamínu D₃ byla prokázána i mezi sledovaným obdobím podzim 2009 a leden 2010. V měřeném období leden 2009 a leden 2010 nebyla prokázána žádná statisticky významná odchylka.

	I/2009	X-XI/2009	I/2010
Minimální hladina vitamínu D ₃	10 nmol/l (1936)	33,8 nmol/l (1948)	10 nmol/l (1948)
Maximální hladina vitamínu D ₃	75,7 nmol/l (1946)	108,4 nmol/l (1944)	70,9 nmol/l (1953)
Průměrná hladina vitamínu D ₃	48 nmol/l	67,02 nmol/l	39,14 nmol/l

Tab. č. 18 – Minimální a maximální koncentrace vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období - skupina č. 2/2009 - pacientky s osteopénií na léčbě Vigantolem (cholecalciferol) a Calcichew (Calcii carbonas 1,25 g a cholecalciferol 200 IU)



Graf.č. 7 - hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období - skupina č. 2/2009 - pacientky s osteopénií na léčbě Vigantolem (cholecalciferol) a Calcichew (Calcii carbonas 1,25 g a cholecalciferol 200 IU)

3. Skupina č. 3/2009 – pacientky s osteoporózou na léčbě Vigantolem (cholecalciferol) a alendronatem (Acidum alendronicum 70 mg)

V této skupině bylo vyšetřeno celkem 40 pacientek, u kterých byla denzitometricky prokázána osteoporóza. Všechny pacientky byly na jednotné suplementaci vitamínu D₃ Vigantol (cholecalciferol) v dávce 1000 IU/den. Zároveň tyto pacientky užívaly alendronat (Acidum alendronicum 70mg 1xtýdně per os).

Pacientkám byly naměřeny hladiny vitamínu D₃ v lednu 2009, v období říjen až listopad 2009 a v lednu roku 2010 (graf.č.8)

Pacientky ani z této sledované skupiny nesplňovaly v zimním období doporučenou minimální hladinu vitamínu D₃. V podzimním období pak tyto pacientky dosáhly uspokojivých průměrných hladin vitamínu D₃.

Minimální hladina vitamínu D₃ byla v lednu 2009 naměřena pacientce s rokem narození 1936. Hladina vitamínu D₃ u této ženy činila 12,5 nmol/l. U této pacientky nebylo dosaženo doporučené dolní hranice pro vitamin D₃ (viz tab.č.19)

Minimální hladina vitamínu D₃ byla v podzimním období, říjen – listopad 2009, naměřena ženě s rokem narození 1934. Hladina vitamínu D₃ u této ženy činila 33,2

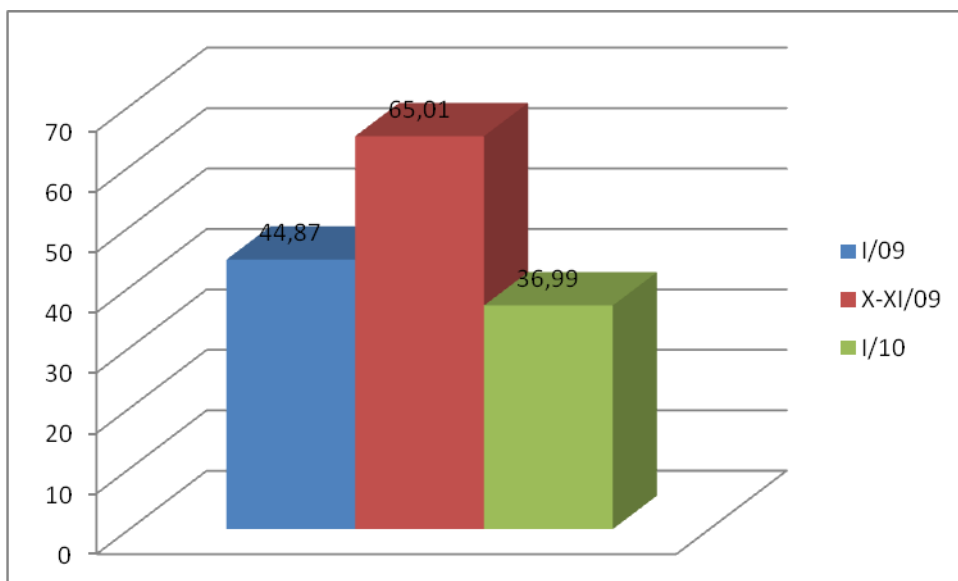
nmol/l. A opět zde nebylo dosaženo doporučené dolní hranici referenčního rozmezí pro vitamin D₃.

Minimální hladina vitaminu D₃ byla v lednu 2010 naměřena pacientce s rokem narození 1940. Hladina vitaminu D₃ u této ženy činila 10,0 nmol/l.

Mezi lednem 2009 a podzimem 2009 byla prokázána statisticky významná odchylka ($p < 0,05$) v hladinách vitaminu D₃. Stejná statisticky významná odchylka ($p < 0,05$) v hladinách vitaminu D₃ byla prokázána i mezi sledovaným obdobím podzim 2009 a leden 2010. V měřeném období leden 2009 a leden 2010 nebyla prokázána žádná statisticky významná odchylka.

	I/2009	X-XI/2009	I/2010
Minimální hladina vitaminu D ₃	12,5 nmol/l (1936)	33,2 nmol/l (1934)	10 nmol/l (1940)
Maximální hladina vitaminu D ₃	86,6 nmol/l (1923)	108,4 nmol/l (1944)	75,4 nmol/l (1950)
Průměrná hladina vitaminu D ₃	44,87 nmol/l	65,01 nmol/l	33,99nmol/l

Tab. č. 19 – Minimální a maximální koncentrace vitaminu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období - skupina č. 3/2009 pacientky s osteoporózou na léčbě Vigantolem (cholecalciferol) a alendronatem (Acidum alendronicum 70 mg)



Graf č. 8 - hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období - skupina č. 3/2009 pacientky s osteoporózou na léčbě Vigantolem (cholecalciferol) a alendronatem (Acidum alendronicum 70 mg)

4. Skupina č. 4– pacientky s osteoporózou na léčbě Vigantolem (cholecalciferol) a Bonvivou (Acidum ibandronicum)

V této skupině bylo vyšetřeno celkem 45 pacientek, u kterých byla denzitometricky prokázána osteoporóza. Všechny pacientky byly na jednotné suplementaci vitamínu D₃ Vigantol (cholecalciferol) v dávce 1000 IU/den. Všechny pacientky byly léčeny Bonvivou 1krát měsíčně p.o. (Acidum ibandronicum).

Pacientkám byly naměřeny hladiny vitamínu D₃ v lednu 2009, v období říjen až listopad 2009 a v lednu roku 2010 (graf č.9).

Pacientky ani z této sledované skupiny nesplňovaly v zimním období doporučenou minimální hladinu vitamínu D₃. V podzimním období pak tyto pacientky dosáhly uspokojivých hladin vitamínu D₃.

Minimální hladina vitamínu D₃ byla v lednu 2009 naměřena pacientce s rokem narození 1936. Hladina vitamínu D₃ u této ženy činila 10 nmol/l. (viz tab.č.20)

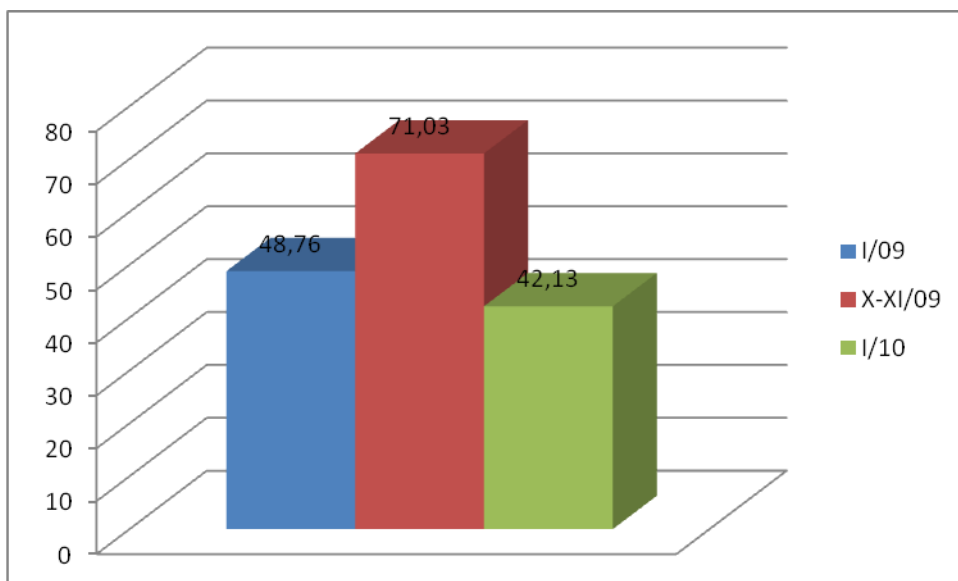
Minimální hladina vitamínu D₃ byla v podzimním období, říjen – listopad 2009, naměřena ženě s rokem narození 1947. Hladina vitamínu D₃ u této ženy činila 30,4 nmol/l. A opět zde nebylo dosaženo doporučené dolní hranici referenčního rozmezí pro vitamín D₃.

Minimální hladina vitamínu D₃ byla v lednu 2010 naměřena pacientce s rokem narození 1947. Hladina vitamínu D₃ u této ženy činila 10,0 nmol/l. U této pacientky nebylo dosaženo doporučené dolní hranici referenčního rozmezí pro vitamín D₃

Mezi lednem 2009 a podzimem 2009 byla prokázána statisticky významná odchylka ($p < 0,05$) v hladinách vitamínu D₃. Stejná statisticky významná odchylka ($p < 0,05$) v hladinách vitamínu D₃ byla prokázána i mezi sledovaným obdobím podzim 2009 a leden 2010. V měřeném období leden 2009 a leden 2010 nebyla prokázána žádná statisticky významná odchylka.

	I/2009	X-XI/2009	I/2010
Minimální hladina vitamínu D ₃	10 nmol/l (1936)	30,4 nmol/l (1947)	10 nmol/l (1947)
Maximální hladina vitamínu D ₃	90,9 nmol/l (1930)	106,4 nmol/l (1944)	80 nmol/l (1930)
Průměrná hladina vitamínu D ₃	48,76 nmol/l	71,03 nmol/l	42,13 nmol/l

Tab.č. 20 – Minimální a maximální koncentrace vitamínu vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období - skupina č. 4/2009 – pacientky s osteoporózou na léčbě Vigantolem (cholecalciferol) a Bonvivou (Acidum ibandronicum)



Graf č. 9 - hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období - skupina č. 4/2009 – pacientky s osteoporózou na léčbě Vigantolem (cholecalciferol) a Bonvivou (Acidum ibandronicum)

5. Skupina č. 5 – pacientky s osteoporózou na léčbě Vigantolem (cholecalciferol) a Fosavance (Acidum alendronicum 70mg + cholecalciferol 2800 IU)

V této skupině bylo vyšetřeno celkem 45 pacientek, u kterých byla denzitometricky prokázána osteoporóza. Všechny pacientky byly na jednotné suplementaci vitamínu D₃ Vigantol (cholecalciferol) v dávce 1000 IU/den a byly léčeny preparátem Fosavance 1krát týdně p.o. (Acidum alendronicum 70mg + cholecalciferol 2800 IU), který obsahuje 2800 IU vitamínu D₃ na týden, tedy 400 IU/den. Pacientky měly tedy celkový denní příjem 1400 IU/den vitamínu D₃.

Pacientkám byly naměřeny hladiny vitamínu D₃ v lednu 2009, v období říjen až listopad 2009 a v lednu roku 2010 (graf č.10).

Pacientky ani z této sledované skupiny nesplňovaly v zimním období doporučenou minimální hladinu vitamínu D₃. V podzimním období pak tyto pacientky dosáhly uspokojivých hladin vitamínu D₃.

Minimální hladina vitamínu D₃ byla v lednu 2009 naměřena pacientce s rokem narození 1947. Hladina vitamínu D₃ u této ženy činila 10 nmol/l. (viz tab.č.21).

Minimální hladina vitamínu D₃ byla v podzimním období, říjen – listopad 2009, naměřena ženě s rokem narození 1937. Hladina vitamínu D₃ u této ženy činila 10

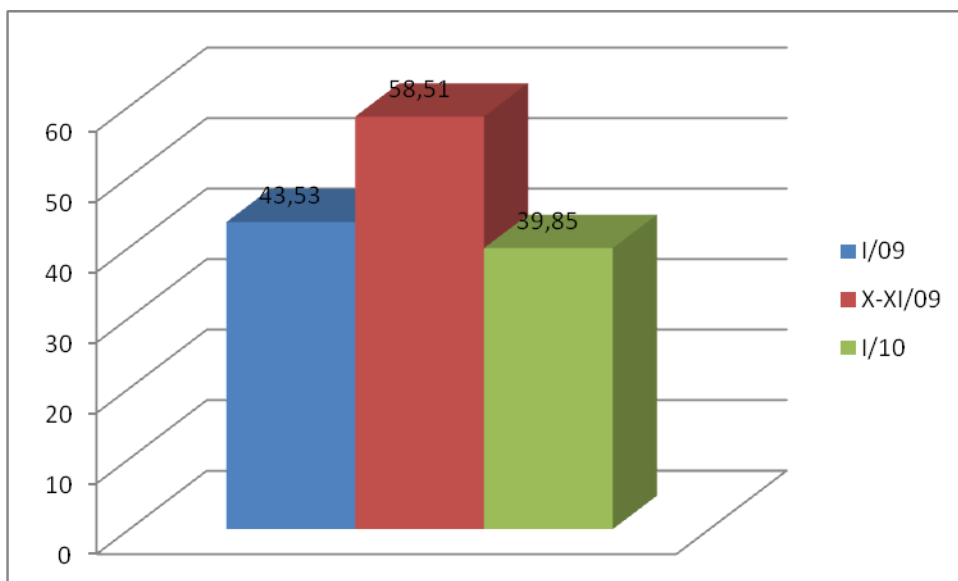
nmol/l. A opět zde nebylo dosaženo doporučené dolní hranici referenčního rozmezí pro vitamin D₃.

Minimální hladina vitamínu D₃ byla v lednu 2010 naměřena pacientce s rokem narození 1950. Hladina vitamínu D₃ u této ženy činila 10,0 nmol/l.

Mezi lednem 2009 a podzimem 2009 byla prokázána statisticky významná odchylka ($p < 0,05$) v hladinách vitamínu D₃. Stejná statisticky významná odchylka ($p < 0,05$) v hladinách vitamínu D₃ byla prokázána i mezi sledovaným obdobím podzim 2009 a leden 2010. V měřeném období leden 2009 a leden 2010 nebyla prokázána žádná statisticky významná odchylka.

	I/2009	X-XI/2009	I/2010
Minimální hladina vitamínu D ₃	10 nmol/l (1947)	10 nmol/l (1937)	10 nmol/l (1950)
Maximální hladina vitamínu D ₃	83,5 nmol/l (1931)	96,9 nmol/l (1953)	70,8 nmol/l (1937)
Průměrná hladina vitamínu D ₃	43,53 nmol/l	58,51 nmol/l	39,85 nmol/l

Tab. č. 21 – Minimální a maximální koncentrace vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období - skupina č. 5/2009 – pacientky s osteoporózou na léčbě Vigantolem (cholecalciferol) a Fosavance (Acidum alendronicum 70mg + cholecalciferol 2800 IU)



Graf č. 10 - hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období - skupina č. 5/2009 – pacientky s osteoporózou na léčbě Vigantolem (cholecalciferol) a Fosavance (Acidum alendronicum 70mg + cholecalciferol 2800 IU)

6. Skupina č. 6 – pacientky s osteoporózou na léčbě Fosavance (Acidum alendronicum 70 mg + cholecalciferol 2800 IU)

V této skupině bylo vyšetřeno celkem 55 pacientek, u kterých byla denzitometricky prokázána osteoporóza. Všechny tyto pacientky byly na jednotné léčbě, a to preparátem Fosavance. Jedná se o kombinovaný preparát (Acidum alendronicum 70 mg + cholecalciferol 2800 IU). Tento preparát byl pacientkám podáván 1krát týdně p.o. Preparát obsahuje 2800 IU vitamínu D₃ na týden, tedy 400 IU/den. Pacientky měly tedy denní příjem pouhých 400 IU vitamínu D₃.

Pacientkám byly naměřeny hladiny vitamínu D₃ v lednu 2009, v období říjen až listopad 2009 a v lednu roku 2010 (graf č.11).

Minimální hladina vitamínu D₃ byla v lednu 2009 naměřena pacientce s rokem narození 1943. Hladina vitamínu D₃ u této ženy činila 25,9 nmol/l. U této pacientky nebylo dosaženo doporučené dolní hranice mezí pro vitamin D₃ (viz tab.č.22).

Minimální hladina vitamínu D₃ byla v podzimním období, říjen – listopad 2009, naměřena ženě s rokem narození 1941. Hladina vitamínu D₃ u této ženy činila 37,7 nmol/l.

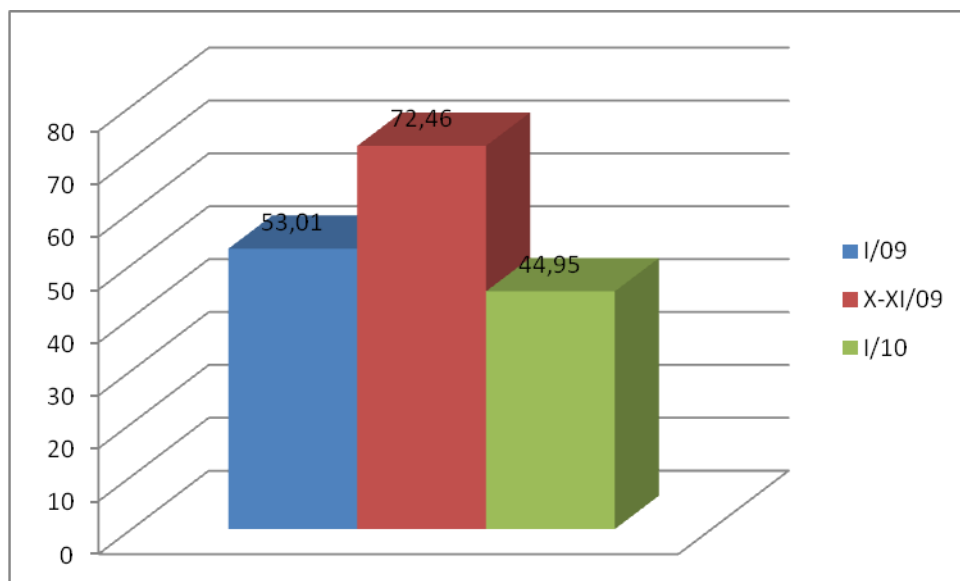
Minimální hladina vitamínu D₃ byla v lednu 2010 naměřena pacientce s rokem narození 1941. Hladina vitamínu D₃ u této ženy činila 21,4 nmol/l.

I přes relativně nízkou suplementaci vitamínem D₃ splnily tyto pacientky v průměru v lednu 2009 doporučenou minimální hladinu vitamínu D₃. V podzimním období pak tyto pacientky dosáhly uspokojivých průměrných hladin vitamínu D₃. V zimním období 2010 doporučenou minimální hladinu vitamínu D₃ nesplnily.

Mezi lednem 2009 a podzimem 2009 byla prokázána statisticky významná odchylka ($p < 0,05$) v hladinách vitamínu D₃. Stejná statisticky významná odchylka ($p < 0,05$) v hladinách vitamínu D₃ byla prokázána i mezi sledovaným obdobím podzim 2009 a leden 2010. Nebyla prokázána žádná statisticky významná odchylka mezi měřenými obdobími leden 2009 a leden 2010.

	I/2009	X-XI/2009	I/2010
Minimální hladina vitamínu D ₃	25,9 nmol/l (1943)	37,7 nmol/l (1941)	21,4 nmol/l (1941)
Maximální hladina vitamínu D ₃	105,4 nmol/l (1927)	162,6 nmol/l (1941)	102,2 nmol/l (1932)
Průměrná hladina vitamínu D ₃	53,01 nmol/l	72,46 nmol/l	44,95 nmol/l

Tab. č. 22 – Minimální a maximální koncentrace vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období - skupina č. 6/2009–pacientky s osteoporózou na léčbě Fosavance (Acidum alendronicum 70 mg + cholekalciferol 2800 IU)



Graf č. 11 - hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období - skupina č. 6/2009 –pacientky s osteoporózou na léčbě Fosavance (Acidum alendronicum 70 mg + cholekalciferol 2800 IU)

6 Diskuse

Studie 2008

Z mé zkušenosti lékaře v metabolické ambulanci, kdy se setkávám většinou již s pacienty s nějakým zdravotním problémem, jsem nabyla přesvědčení, že problém osteoporózy začíná již dlouho před příchodem do ambulance. Se zavedením nových metodik při stanovování markerů kostního metabolismu a vitamínu D pak vyšlo najevo, že i populace v produktivním věku má v dosažení dostatečné hladiny vitamínu D, tolik nutného ke kvalitní stavbě kosti, velké rezervy.

Tato studie, byť provedená na velmi malém počtu pacientů, převážně obyvatelů Prahy, však již ukázala, že problém může být ještě větší než se udává.

Hodnoty hladin vitamínu D₃ u skupin zdravých mužů a žen jen v ojedinělých případech dosahovaly hodnot nad 80 nmol/l. Tito lidé jsou převážně odkázáni, díky svým pracovním aktivitám, na tvorbu vitamínu D ze slunečního svitu o víkendech a svátcích. V případě nepříznivého počasí, v menší oblibě spotřeby mořských produktů, střídmosti v požívání tuků a mléčných produktů, zvýšené spotřeby alkoholu, kouření nebo u vyznavačů indoorových aktivit, je pak i tato skupina, dosud zdravých lidí, náchylnější ke vzniku osteoporózy. Ani outdoorové aktivity, však při používání ochranných krémů, tolik nepřispívají ke zvýšeným hodnotám hladin vitamínu D₃.

Ve skupinách č. 3 a č. 4 byl již zřejmý účinek suplementace vitamínem D, byť, jak je z výsledků zřejmé, ani zde nedosahoval požadovaných hodnot nad 80 nmol/l.

Otázkou je, zda je doporučená suplementace pro naši zeměpisnou šířku dostatečná, nebo je správně zvolená doporučená hranice, anebo je problém v možnostech dosud používaných analytických metod. Jelikož se tento problém však jeví jako celosvětový, dá se vyloučit vliv analytiky, neboť ta je převážně všude stejná (RIA, ELISA, HPLC, ECLIA metody).

Mohu se domnívat, že u venkovských obyvatel budou hodnoty hladin vitamínu D₃ vyšší, ale protože ne všichni pracují na venku, nebude rozdíl až tak markantní. O hodnotách vitamínu D₃ u školních dětí nechci, vzhledem k oblíbenosti počítačů a televizních seriálů, ani uvažovat.

Studie 2009

Získané hodnoty hladin 25-OH vitamínu D₃ v této studii jasně poukazují na to, že ani dosud doporučovaná suplementace vitamínem D není dostatečná. Nicméně se zdá, že aspoň u pacientů s prokázanou osteoporózou a léčených nejenom dávkami vitamínu D a kalcia, jsou výsledky optimističtější a často nemusí jít ani o vysokou dávku vitamínu D (viz tabulka č. 23). Důležitou roli zde tedy bude hrát nejenom případná vlastní zkušenost s prodělanou frakturou, ale i důkladná edukace, která má za následek lepší pravidelnost v užívání léků. Vliv ročního období na hodnoty vitamínu D₃ je neoddiskutovatelný i u suplementovaných pacientů.

I když jsou skupiny č. 5 a č. 6 léčeny stejně, jen s rozdílem suplementace vitamínem D u skupiny č. 5, přesto jsou průměrné hodnoty vitamínu D₃ vyšší u skupiny č. 6. Pokud pomineme relativně malý soubor pacientů (45 resp. 55), pak se nabízí otázka, zda je vitamin D při této léčbě dostatečně vstřebáván. Velkou roli zde také může hrát BMI pacientek. Ten však nebyl v této studii zohledněn.

Skupina	Dávka Vitamínu D (IU/den)	Průměrná hladina 25-OH vitamínu D ₃ (nmol/l)		
		I/2009	X – XI/2009	I/2010
1	1000	43,22	64,14	35,61
2	1200	48,00	67,02	39,14
3	1000	44,87	65,01	36,99
4	1000	48,76	71,03	42,13
5	1400	43,53	58,51	39,85
6	400	53,01	72,46	44,95

tab. č. 23 – Získané průměrné hodnoty 25-OH vitamínu D₃ (nmol/l) v jednotlivých obdobích v závislosti na suplementované dávce vitamínu D

7 Závěr

Civilizační choroby jsou spojeny s životním stylem moderní doby. Hlavními příčinami těchto chorob je nevyváženost stravy na straně jedné a nedostatek fyzické aktivity na straně druhé.

V metabolické ambulanci cíleně léčíme a edukujeme pacienty s poruchou metabolismu tuků. Těmto pacientům doporučujeme, v rámci racionální stravy, omezení živočišných a některých rostlinných tuků. Doporučujeme nízkotučné potraviny, včetně mléka a jogurtů. Máslo u těchto pacientů nahrazujeme margariny. Přitom fortifikace potravin vitamínem D v České republice v těchto typech není příliš běžná.

Vitamin D je ale vitamin rozpustný v tucích. A zde nastává první problém. Pacienti, i to malé množství vitamínu D, co by mohli získat z potravy, nemají. Pravidelná konzumace ryb a rybích produktů není součástí běžného jídelníčku v české domácnosti.

Dalším zdrojem vitamínu D je sluneční záření. Ze stran kolegů dermatovenerologů jsme informováni o značném výskytu melanomů, který souvisí s nadměrným opalováním. Běžná populace se slunci záměrně vyhýbá. Nebo používá krémy s vysokým faktorem SPF a vstřebávání vitamínu D se opět neuskuteční. Naštěstí někteří lidé jsou neukáznění a opalují se v rozumné míře dál. V době současné ekonomické krize klesl počet dovolených u moře, což pro některé jedince byl jediný zdroj vitamínu D přirozeným způsobem.

Fyzická aktivita mnoha lidí je naprosto nedostatečná. A řada lidí, kteří sportují, preferují indoorové aktivity. Opět nedochází k přirozené suplementaci vitamínem D.

Nebyla veřejně prezentována srovnávací tabulka počtu úmrtí na následky melanomu a na následky fraktur proximálního femuru.

Pacienti a pacientky s již prokázanou poruchou kostního metabolismu jsou léčeni podle nejnovějších terapeutických postupů a doporučení. Běžná populace o problematice vitamínu D a hlavně jeho deficitu není informována vůbec. Je třeba klást větší důraz na edukaci zdravé populace, je třeba informovat o nezbytnosti příjmu vitamínu D, aby se nenaplnila prognóza počtu nově vzniklých osteoporotických fraktur pro další roky.

8 Použitá literatura

1. ADAMI, S., BERTOLDO, F., BRANDI, ML., CEPOLLARO, C., FILIPPONO, P., FIORE, E., FREDIANI, B., et al: *Guidelines for the diagnosis, prevention and treatment of osteoporosis*, Reumatismo. 2009 Oct-Dec: 61(4):260-84
2. ARMBRUSTTER, F.P., FRIEDL,S et al: *Development of a Novel ELISA for 1,25-Dihydroxyvitamin D*, Clin Lab. 2000, 46:165-166
3. BÁLKOVÁ, O., *Markery kostní remodelace*, Labor Aktuell 4/07
4. BARAKÉ, R., WEILER, H., PAYETTE,H., GRAY-DONALD,K. : *Vitamin D suplement consumption is required to achieve minimal target 25-hydroxyvitamin D concentration of > or = 75 nmol/L in older people*, J Nutr. 2010 Mar:140(3) 551-6
5. BARTL, R., FRISH, B.: *Osteoporosis: diagnosis, preventiv, therapy*. Springer 2006
6. BAYER, M.: *Vitamin D ve světle staletí*, Osteologický bulletin, 2007, č.2, roč.12
7. BERKOW,R.: *Kompendium klinické medicíny*, 1996
8. BIKLE,DD.: *Vitamin D insufficiency/deficiency in gastrointestinal disorders*, J Bone Miner Res, 2007 Dec, 22 Suppl., V50-4
9. BILYK I., NEMEC, R.: *Vybrané laboratorní metody*, Avicenum, 1988
10. BISCHOFF-FERRARI, H.A., DAWSON-HUGHES, B., WILLET, W.C., STAEHELIN, H.B. at al: *Effects of vitamin D and calcium supplementation on falls: a randomized controlled trial*, J Bone Miner Res 2003,18: 343-351
11. BIANCUZZO,RM., YOUNG,A., BIBULD,D., CAI,MH., WINTER,MR., KLEIN, EK., AMERI,A., REITZ,R., SALAMEH,W., CHEN, TC., HOLICK,MF.: *Fortification of orange juice with vitamin D(2) or vitamin D(3) is as effective as an oral suplement in maintaining vitamin D status in adults*, Am J Clin Nutr, 2010Jun, 91(6):1621-6
12. BINKLEY,N., RAMAMURTHY,R., KRUEGER, D.: *Low vitamin D status: definiciton, prevalence, consequences, and correction*, Endocrinol Metab Clin North Am, 2010 Jun: 39(2): 287-301
13. BLAHOŠ, J., *Osteoporóza*, Galén, 1995, ISBN 80-85824-26-4

14. BOONEN, SS., VANDERSCHUEREN, D., HAENTJENS, P. and LIPS, P.: *Calcium and vitamin D in the preventiv and treatment of osteoporosis – a clinical update*, J of Internal Medicine, 2006, 259:539 – 552
15. BOUITLON, R.A, AUWERX, J.H., LISSENS, W. and PELEMANS, W.K.: *Vitamin D in the elderly: seasonal substrate deficiency causes 1,25-dihydroxycholecalciferol deficiency*, Am J Clin Nutr, 1987, 45: 755-63
16. BORKMAN, M., SORVA, A., RISTELI, J., TILVIS, R.: *Vitamin D supplementation has minor effects on parathyroid hormone and bone turnover markers in vitamin D-deficient bedridden older patients*, Age and Ageing, 2008, 37: 25-31
17. BROCK, KE., GRAUBARD, BI, FRASER, DR., WEINSTEIN, SJ, STOLZENBERG-SOLOMON, RZ, LIM, U., ANES, D.: *Predictors of vitamin D biochemical status in a large sample of middle-aged male smokers in Finland*, Eur J Clin Nutr Mr:64(3):280-8
18. BROULÍK, P.: *Osteoporóza a její léčba*, 2. rozš. vydání, Maxdorf Jessenius, 2009, ISBN 978-80-7345-176-9
19. BROULÍK, P.: *Osteoporóza*, Maxdorf Jessenius, 1999, ISBN 80-85800-93-4,
20. CARTER,GD. : *25 –Hydroxyvitamin D Assays: The Quest For Accuracy*, Clinical Chemistry 2009, 55:7,1300-1302
21. CASHMAN, KD., HILL, TR., COTTER, AA., BOREHAM, CA., et al: *Low vitamin D status adversely affects bone health parameters in adolescents*, Am J Clin Nutr, 2008 Apr., 87(4):1039 – 44
22. CORDES,T., FISCHER,D., THILL,M., BECKER,S., FRIEDRICH,M., SALEHIN,D.: *Vitamin D-1alpha-hydroxylase and vitamin D-24-hydroxylase in benign and malign breast tissue*, Eur J Gynaecol Oncol, 2010,31(2):151-5
23. CRANNEY,A., HORSLEY,T.: *Effectiveness and safety of vitamin D in relation to bone health*, Evid Rep Technik Assess, 2007 Aug (158):1-235
24. CUMMINGS, SR., NEVITT, MC., BROWNER, WS. et al: *Risk factors for hip fracture in white women. Study of osteoporotic fractures research group*, N Engl j Med, 1995, 332: 767-773

25. CUMMINGS, SR., BLACK, DM., NEVITT, MC. et al: *Bone density at variol sites for prediction of hip fractures. The study of osteoporotic fractures group*, Lancet, 1993, 25: 1-13
26. DANIELL, HW.: *Osteoporosis of the Spenser Smoker*, Arch Intern Med. 1976;136(3):298-304
27. DAWSON-HUGHES,B., JOSSE, R.: *Vitamin D status i North America*, 2010,
28. DAWSON-HUGHES,B. et al: *The urgent need to recommend an intake of vitamin d that is effective*, Amm J Clin Nutr, 2007, 85:649-650
29. DOLEŽALOVÁ V. a kol.: *Laboratorní technika v klinické biochemii a toxikologii*, Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví Brno, 1995
30. DEMBROW,M.: *High vitamin D:Rx for cancer prevention?*, Clin. Advisor, 2007,10:54-7
31. DERMAN, R.: *Recognition iof Woomen at Risk for Fracture and Intervention with Fast-Acting Therapies*, Int J Fertil Womens Med, 2006, 51(4): 183-190
32. DOMINGUEZ,LJ., SCALISI,R., BARBAGALLO,M.: *Therapeutic options in osteoporosis*, Acta Bimed. 2010;81 Suppl 1:55-65
33. DUKAS, L., SCHACHT, E.: *Osteoporosis int.*, 2005
34. *Elecsys Bone Marker Testing*, Mannheim, Germany, 2004
35. ELLIOT,JO., LU,B., MOORE,JL., McAULEY,JW., LONG,L. : *Exercise, diet, health behaviors, and risk factors amnog persons with epilepsy based on the California Health Interview Survey*, 2005, Epilepsy Behav. 2008 Aug. 13(2):307-15
36. ENGLUND,U., NORDSTROM,P., NILSSON,J., BUCHT,G., BJORNSTIG,U., HALLMANS,G., SVENSSON,O., PETTERSON,U.: *Physicial aktivty in modele-aged women and hip fracture risk: the UFO study*, Osteoporos Int, 2010 May13
37. *Facts and statistics about osteoporosis and its impact*, www.iofbonehealth.org
38. FAIT, T.: *Osteoporóza, estrogeny a gynekologická praxe*, Lékařské listy 18, 2007, s. 13-16

39. Food and Nutrition Board, National Research Council, *Recommended Dietary Allowances*, 9th ed. Washington DC: National Academy Press 1990
40. FORD,E.S., AJANI,U.A., McGUIRE,L.C.,LIU,S.: *Concetrations of serum vitamin D and the metabolit syndrome among U.S. adults*, Diabetes Care, 2005,28:1228-30
41. FUSBYA,JS., KASSMEIER,MD., PALMER,VL., PERRY,GA., ANDERSON, DK., HACKFORT, BT., ALVAREZ, GK, CULLEN,DM, AKHTER,MP., SWANSON, PC.: *Cigaretce smoke-induced effects on bone marrow B-cell subsets and CD4(+):CD8(+) T-cell rations are reversed by smoking cessation: Influence of bone mass on immune cell response to and recovery from smoke exposure*, Inhal Toxicol. 2010 May 20
42. GALLAGHER, J. C., FOWLER, S.E., DETTER, J.R. and SHERMAN, S.S.: *Combination Treatment with Estrogen and Calcitriol in the Prevention off Age-Related Bone Loss*, J of Clinical Endocrinology and Metabolism, 2001, vol 86, No.8
43. GALLO,S., JEAN-PHILLIPE,S., RODD,C., WEILER, HA: *Vitamin D supplementation of Canadian infants: practices of Montreal mothers*, Appl Physiol Nutr Metab, 2010 Jun, 35(3):303-9
44. GIAMPETRO, PF., McCARTY, C., MUKESH,B., McMIERNAN, F., WILSON, D., SHULDINER, A., LIU, J., LeVASSEUR, J., IVACIC, L., KITCHNER, T., GHEBRANIOUS, N.: *The role of cigarette smoking and statins in the develompemnt of postmenopausal osteoporosis: a pilot study utilizing the Marshifield Clinic*, Personalized Medicine Cohort, Osteoporos Int. 2010 Mar:21(3):467-77
45. GORDON, CM., DePETER,KC., FELDMAN, HA.et al: *Prevalence of vitamin D deficiency among healthy adolescents*, Arch Pediatr Adolesc Med, 2004, 158:531-537
46. GRANT,WB.et al: *Ecological Studies Of Ultraviolet B, Vitamin D And Cancer Since 2000*, 2009, Ann. Epidemiol, 19:446-454
47. HANNAN, MT., FELSON, DT., ANDERSON, JJ.: *Bone mineral density in elderly men and women:results from the Framingham osteoporosis study*, J Bone Miner Res, 1992. 7:403-422

48. HART, G.R.: *Medical Conditions Associated with Vitamin D Deficiency and the Clinical Consequences*, Immunodiagnosics Systém, Sept 2004, Vol. 1
49. HART,G.R.: *Overview of Vitamin D Measurement and Methodologies*, Immunodiagnosics System, May 2005, Vol 2
50. HATHCOCK,J.N., SHAO,A., VIETH,R., HEANEY,R.: *Risk assessment for vitamin D*.Am.J.Clin.Nutr., 2007 Jan: 85(1):6-18
51. HEANEY, RP.: *Nutritional factors in osteoporosis*, Annu Rev Nutr, 1993,13:287-316
52. HEANEY,RP.: *Vitamin D in Health and Disease*, Clin. J. Am. Soc. Nephrol, 2008, 3:1535-1541
53. HIRANI, V., TULL, K., ALI, A., MINDELL, J.: *Urgent action needed to improve vitamin D status among older people in England!*, Age Ageing. 2010 Jan: 39(1):62-8
54. HOIDRUP et al.: *Tobacco smoking and risk of hip fractures in men and women*, Int J Epidemiol 2000: 29:253-259
55. HOLLICK, M.F., BIANCUZZO, R.M., CHEN, T.C et al: *Vitamin D2 Is as Effective as Vitamin D3 in Maintaining Circulating Concentrations of 25-Hydroxyvitamin D*, J Clin Endocrinol Metab, March 2008, 93(3):677-681
56. HOLLICK,MF.: *Vitamin D Deficiency*, New Engl. J. Med., 2007, 357:266-281
57. HOSOI, T.: *Daily practice using the guidelines for prevention and treatment of osteoporosis. Fracture risk assessment with Japanese guideline*, Clin Calcium. 2008 Aug.18(8):1084-8
58. <http://www.natur.cuni.cz/~pcoufal/hplc.html>
59. HOUGHTON, LA, VIETH,R.: *The case against ergocalciferol (vitamin D2) as a vitamin supplement*, Am J Clin Nutr, 2006 Oct., 84(4):694-7
60. HYPPÖNEN, E. et al: *Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth kohort study*, Lancet, 2001m 358:1500-03
61. CHAPUY, MC., ARLOT, ME., DUBIEF, F. et al: *Vitamin D3 and calcium to prevent hip fractures in the elderly women*, N Engl J Med, 1992, 327: 1637-1642
62. CHAPUY, MC.,PAMPHILE,R.,PARIS, E. et al: *Combined calcium and vitamin D3 supplementation in the elderly woman: confirmation of reversal*

- of secondary hyperparathyroidism and hip fracture risk: the Decalys II Study*, Osteoporosis Int 2002, 13:257-443
63. CHRISTAKO,S., RAVAL-PANDYA,M., WERNY, R.P. and YANG,W.: *Genomic mechanism involved in the pleiotropic actions of 1,25-dihydroxyvitamin D3*, Biochem. J., 1996, 316:361-371
64. CHROMÝ,V., FISCHER,J., HAVEL, J., VOTAVA,M.: *Bioanalytika*, Masarykova univerzita Brno, 2002
65. *IOF Releases New Position Statement on Vitamin D Recommendations for Older Adults*, Florence, 2010, www.nutritionhorizon.com
66. ILLICH,JZ., CVIJETIC,S., BARIC,IC., CECIC,I., SARIC,M., CRNCEVIC-ORLIC, Z., BLANUSA,M, KORSIC,M.: *Nutrition and lifestyle in relationship to bone health and body weight in Croatian postmenopausal women*, Int J Food Sci Nutr.2009 Jun:60(4): 319-32
67. INOUE, M., TANAKA, H., MORIWAKE, T. et al: *Altered biochemical markers of bone turnover in humus during 120 days of bed rest*, Bone 2000, 26:281
68. JACKSON, R.D., LA CROIX, A.Z. at al: *Calcium plus Vitamin D Supplementation and the Risk of Fractures*, N Engl J Med., 2006, Febr. 16, vol 354, No 7
69. JANSSEN, HC., SAMSON, MM., VERHAAR, HJ: *Vitamin D deficiency, muscle fiction, and falls in elderly people*, Am J Clin Nutr, 2002, 75: 611-615
70. JENŠOVSKÝ, J.: *Význam kalcia a vitamínu D v léčbě postmenopauzální osteoporózy*, Klimakterická medicína, 1/2007, roč. 12, ISSN 1211-4278
71. JOHNSTON, CC. Jr.: *Development of clinical practice guidelines for preventiv and treatment of osteoporosis*, Calcif Tissue Int, 1996, 59(1):30-33
72. KAZDA, A., BROULÍK, P.: *Nutrice a osteoporóza*, Osteol. Bull, 2006: 4(11):95-104
73. KALVACHOVÁ,B.: *Vitamin D - nové poznatky a endokrinní mikrosystémy kalcitriolu*, Osteologický bulletin, 2007, č.2, roč. 12
74. KANIS, JA., MMELTON, LJ., CHRISTIANSEN, C., JOHNSTON, CC.: KHALTAEV, N.: *The diagnosis of osteoporosis*, J Bone Miner Res, 1994, 9: 1137-1141

75. KANIS, JA., JOHNELL,O., ODEN, A., JOHANSSON, H., McCLOSKEY, E: *Frax TM and the assesment of fracture probability in men and women from the UK*. Osteoporos Int, 2008, 19:385-397
76. KANIS, JA., JOHNELL,O., ODEN, A., DAWSON, A. et al: *Ten year probabilities of osteoporotic fractures according to BMD and diagnostics thresholds*, Osteoporos Int, 2001, 12(12):989-995
77. KHAW, K-T, SCRAGG, R.and MURPHY, S.: *Single-dose cholecalciferol suppresses the winter inrease in parathyroid hormone concentrations in health older men and women: a randomized trial*, Am J Clin Nutr., 1994, 56:1040-4
78. KHOSLA, S., MELTON, LJ III: *Osteopenia*, N Engl J Med, 2007, 356(22): 2293-2300
79. KIEL et al.: *Smoking Eliminates the Protective Effect of Oral Estrogens on the Risk for Hip Fracture aminy Women*, Ann Int Med 1992: 116: 716-721
80. KIM, BJ., LEE,SH., BAE,SJ., KIM,HK., CHOE,JW., KIM,HY., KOH,JM., KIM, GS: *The association between serum thyrotropin (TSH) levels and bone mineral density in healthy euthyreoid men*, Clin Endocrinol, 2010 Apr 23
81. KLOUDA, P.: *Moderní analytické metody*, Ostrava, 2003
82. KRAGT,JJ. Et al: *Higher levels of 25-hydroxyvitamin D are associated with a low incidence of multiple sclerosis only in women*, Multiple Sclerosis, 2009, 15:9-15
83. KVAPIL, M.: *Diabetologie 2010*, Triton, 2010, ISBN- 978-80-7387-381-3
84. LAI, JK., LUCAS,RM, CLEMENTS,MS., RODDAM, AW., BANKS, E: *Hip fracture risk in relation to vitamin D supplementation and serum 25-hydroxyvitamin D levels: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials and observational studies*, BMC Public Health, 2010 Jun 11, 10(1):331
85. LAPPE,J.M., TRAVERS-GUSTTAFSON, D., DAVIES,K.M., RECKER,R.R., HEANNEY, R.P.: *Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of randomized trial*, Am.J.Clin.Nutr., 2007:85:1586-91

86. LAU, K.H.W., BAYLINK, D.J.: *Vitamin D Therapy of Osteoporosis: Plain Vitamin D Therapy Versus Active Vitamin D Analog (D - Hormone) Therapy*, *Calcif Tissue Int.*, 1999, 65: 295-306
87. LAURIDSEN, AL, VESTERGAARD, P, HERMANN, AP, BROT, C., HEICKENDORFF, L., MOSEKILDE, L., NEXO, E: *Plasma concentration of 25-hydroxy- vitamin D and 1,25-dihydroxy-vitamin D are related to the phenotype of Gc (vitamin D-binding protein): a cross-sectional study on 595 early postmenopausal women*, *Calcif Tissue Int.*, 2005 Jul, 77(1):15-22
88. LAW, M., WITHERS,H., MORRIS, J., ANDERSON, F.: *Vitamin D supplementation and the preventiv of fractures and falls: results of a randomised trial inelderly people in residential accommodation*, *Age and Ageing*, 2006, 35:482-486
89. LIBERMAN, U. A.: *Vitamin D-Resistant Diseases*, *J of Bone and Mineral Research*, Dec. 2007, 22: V105-V 107
90. LINDSAY, R., SILVERMAN, SL., COOPER, C. et al: *Risk of new vertebral fracture in the year following a fracture*, *JAMA*, 2001,285(3):320-323
91. LIPS, P.: *Vitamin D status in Europe*, 2010, www.iofbonehealth.org
92. LIPS, P.: *Vitamin D fysiology*, *Prog Biophys Mol Bol*, 2006 Sep., 92(1):4-8
93. LIU,S., SONG,Z., FORD,E.S., MANSON,J.E., BURING,J.E., RIDKER,P.M.: *Dietary calcium, vitamin D, and the prevalence of metabolit syndrome in middle-aged and older U.S. women*, *Diabetes Care*, 2005Dec.28(12):2926-32
94. LUO,Q., HE,H., YANG,L., HE, C., WU, Y., XIONG, E., XIE,W.: *Study on the relationship between body mass index and osteoporosis in males*, *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheby Xue Za Zhi*, 2010 Apr:27(2):311-4
95. LYONS, R. A., JOHANSEN, A.: *Osteoporosis int.*, 2007
96. NEED, A. G., HOROWITZ, M., MORRIS, H.A. and NORDIN, CH.: *Vitamin D status: effects on parathyroid hormone and 1,25-dihydroxyvitamin D in postmenopausal woman*, *Am J Clin. Nutr.*, 2000,71:1577-81
97. MAEDA, SS., KUNII, I.S., HAYSASHI, L.F., LAZARETTI—CASTRO,M.: *Inreases in summer serum 25- hydroxyvitamin D (25OHD)*

- concentrations in elderly subjects in Sao Paolo, Brazil, BMC Endocr. Disord.*, 2010 Jun 14,10:12
98. MALABANAN, A., VERONIKIS, IE., HOLICK, MF.: *Redefinig vitamin D insufficiency*, Lancet 19698, 351:805-806
99. McCULLOUGH,ML., BOSTICK,RM., DANIEL,CR., FLANDERS, WD., SHAUKAT,A., DAVISON,J., RANGASWAMY, U., HOLLIS, BW.: *Vitamin D status and impact of vitamin D3 and/or kalcium supplementation in a randomized pilot study in the Southeastern United States*, J Am Coll Nutr, 2009 Dec, 28(6):678-86
100. McKINLAY et al: *Smoking and Age at Menopause in Women*, Ann Intern Med 1995: 103:350-356
101. MISTRETTA,VI., DELANEY,P.: *Vitamin D2 or vitamin D3*, Rev. Med. Interne, 2008 Oct:29(10):815-20
102. *Metabolická kostní nemoc u chorob gastrointestinálního traktu*, www.zdn.cz
103. MEYER, H.E., SMEDSHAUG ,G.B., KVAAVIK, E., FALCH, J.A., TVERDAL,A. and PEDERSEN, J.I.: *Can vitamine D Supplementation Reduce the Risk of Fracture in the Elderly? A Randomized Controlled Trial*, Journal of Boone and Mineral Research, 2002, Vol. 17, No 4
104. *Monnitoring of Treatment Efficacy in Osteoporosis*, Mannheim, Germany, 2004
105. MORALES-TORRES, J.: *Vitamin D status in Latin America*, 2010,
106. NICITA-MAURO,V., MALTESE,G., NICITA-MAURO,C., LASCO,A., BASILE,G.: *Non smoking for successful aging: therapeutic perpsectives*, Curr Pharm Des, 2010.16(7):775-82
107. NISHII, Y.: *Rationale for Active Vitamin D and Analogs in the Treatment of Osteoporosis*, Journal of Cellular Biochemistry, 2003, 88: 381-386
108. NGUYEN, T., SAMBROOK, P., KELLY, PJ. et al: *Risk factors for osteoporotic fractures in elderly men*, Am J Epidemiol, 1996, 144:255-263
109. 'CONNOR,E., MOLGAARD, C., MICHAELSEN, KF, CASHMAN, KD.: *Vitamin D-vitamin K interaction: effect of vitamin D supplementation on serum percentage undercarboxylated osteocalcin, a sensitive measure of vitamin K status*, in Danish viros, Br J Nutr, 2010 May, 21:1-5

110. PARENTE,RC., FAERSTEIN,E., CELESTE, RK, WERNECK,GL.: *The relationship between smoking and age at the menopause: A systematic review*, Maturita.2008 Dec 20.61(4):287-98
111. PFIEFER,M., BEGEROW,B., MINNE,H.W. et al: *Vitamin D status, trunk muscle strength, body sway, falls and fractures among 237 postmenopausal women with osteoporosis*,Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes, 2001:109:87-92
112. PORTHOUSE,J., COCKAYNE, S. at al: *Randomised controlled trial of calcium and supplementation with cholecalciferol (vitamin D3) or prevention of fractures in primary care*, BMJ, 2005, April 30, vol 330, p.1-6 Praha: Galén, 2006
113. RACEK, J.et al: *Klinická biochemie*, 2.přepr. vydání, Galén, 2006, ISBN 80-7262-324-9
114. RAO,SS., SINGH,M., PARKAR,M., SUGUMARAN,R.: *Health maintenance for postmenopausal women*, Am Fam Physician. 2008Sep 1:78(5):538-91
115. RAPURI, P. B., KINYAMU, H.K., GALLAGHER, J. CH. and HAYNATZKA, V.: *Seasonal Changes in Calcitropic Hormones, Bone Markers, and Bone Mineral Density in Elderly Woman*, The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 2002, 87(5): 2021-2032
116. RINGE, J.D., DORST, A., FABER, H., SCHACHT, E., RAHLFS, V.W.: *Superiority of alfacalcidol over plain vitamin D in the treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis*, Rheumatol In, 2003, Sept, s00296-003-0361-9
117. The RECORD Trial Group: *Oral Vitamin D3 and Calcifor secondary preventiv of low-trauma fractures in elderly people: a randomised placebo – controlled trial*, Lancet, 2005, 365: 1621-28
118. ROSA, J.: *Farmakoterapie suplementum*, Současné přístupy k léčbě osteoporózy, 2010, s.75-85
119. ROSA, J.: *Doporučené postupy pro diagnostiku a terapii postmenopauzální osteoporózy- I. Část*, Osteologický bulletin, 2007
120. ROSA, J.: *Doporučené postupy pro diagnostiku a terapii postmenopauzální osteoporózy- II. Část*, Osteologický bulletin, 2007

121. SALAMONE et al.: *Effect of a lifestyle intervention on bone mineral density in premenopausal women: a randomized trial*, Am. J.Clin. Nutr. 1999;70:97-103
122. SANDHU, S, LEE, P., CENTER, J. R., EISMAN, J.A.: *Vitamin status in Oceania*, 2010, www.iofbonehealth.org
123. SHIRAKI, M., KUSHIDA, K., YAMAZAKI, K. at al: *Effects of 2 Years Treatment of Osteoporosis with 1 α - Hydroxy Vitamin D3 on Bone Mineral Density and Incidence of Fracture: A Placebo-Controlled, Double – Blind Prospective Study*, Endocrine Journal, 1996, 43(2), 211-220
124. SCHARLA, StH.: *Epidemiology of vitamin D deficiency/insufficiency in different european countries*, Journal für Menopause 7 (Supplementum 2), 2007, 29-33
125. SINOTTE, M, ROUSSEAU, UF., AYOTTE,P., DEWAILLY, E., DIORIO, C, GIGUERE, Y., BERUBE, S., BRISSON, J.: *Vitamin D receptor polymorphisms (FokI,BsmI) and breast cancer risk: association replication in two case-control studies within French Canadian population*, Endocr. Relat. Cancer, 2008 Aug, 21, PubMed
126. SIRIS, E., DELMAS, PD.: *Assesment of 10- year absolute fracture risk: a new paradigm with worldwide application*, Osteoporos Int, 2008, 19: 383-384
127. SMITH,M.: *WCO: Second –Hand Smoke Is A Bone-Breaker*, June 07, 2006, www.medpagetoday.com
128. SOLOMON, DH.: *Will absolute fracture risk prediction facilitate treatment of osteoporosis?*, Nat Clin Pract Endocrinol Metab., 2008 Sep, 4(9):480-1
129. STAFFORD, R., FARRAR, M, KIFT,R., DURKIN, MT., BERRY, JL., WEBB, AR., RHODES, LE.: *The impact of photosensitivity disorders on aspects of lifestyle*, Br J Dermatol 2010, Jun 10
130. STÁRKA, L., ZAMRAZIL, V. a kol: *Základy klinické endokrinologie*, Maxdorf s.r.o., 2005
131. ST-ARNAUD,R., GLORIEUX, F.H.: *Editorial:24,25-Dihydroxyvitamin D – Active Metabolite or Inactive Catabolite?*, Endocrinology,1998, Vol.139, No.8 3371-3374
132. ŠTĚPÁN, J.: *Osteoporóza v praxi*, Triton, 1997, ISBN 80-85875-50-0

133. STRUNECKÁ, A.: *Vitamin D v centru pozornosti*, 2010, <http://toxikology.emtrading.cz>
134. ŠTĚPÁN, J.: *Monitorování léčby osteoporózy*, 2007, r. 15, č. 2
135. TAMAKI, J., IKI, M., FUJITA, Y., KOUDA, K., YURA, A., KADOWAKI, E., SATO, Y., MOON, J. S., TOMIOKA, K., OKAMOTO, N., KURUMATANI, N.: *Impact of smoking on bone mineral density and bone metabolism in elderly men: the Fujiwarakyo Osteoporosis Risk in Men (FORMEN) study*, *Osteoporosis Int.* 2010 Apr 10
136. TINETTI, M. E.: *Factors associated with serious injury during falls by ambulatory nursing home residents*, *J. Am. Geriatr. Soc.*, 1987; 35:644-8
137. TRANG, H. M., COLE, D. E.: *Evidence that vitamin D3 increases 25(OH)D more efficiently than does vitamin D2*, *Am J Clin Nutr.* 1998 Oct; 68(4):854-8
138. VÁVROVÁ, J.: *Vitamíny, stopové prvky*, ČSKB ČLS JEP, 2007
139. VIETH, R.: *Vitamin D toxicity, policy, and science*, *J Bone Miner. Res.* Dec. 2007, 22 Suppl.:V64-8
140. VIETH, R. et al.: *Efficacy and safety of vitamin D3 intake exceeding the lowest observed adverse effect level*, *Am J Clin Nutr.* 2001, 73:288-94
141. VIETH, R. et al.: *The urgent need to recommend an intake of vitamin D that is effective*, *Am J Clin Nutr.* 2007, 85:649-650
142. *Vitamin D*, 2010, www.iofbonehealth.org
143. *Vitamin D: Facts & Statistics*, www.healingtherapies.info
144. *Vitamin D Sources - Foods with Vitamin D*, www.algaecal.com
145. *Vitamin D*, 2008, www.merck.com
146. *Vitamin D*, Wikipedia. the free encyclopedia
147. VOGESER, M. et al.: *Candidate Reference Method for the Quantification of Circulating 25-Hydroxyvitamin D3 by Liquid Chromatography- Tandem Mass Spectrometry*, *Clinical Chemistry* 50, No.8, 2004, 1415-1417
148. VONDRACEK, S. F.: *Managing osteoporosis in postmenopausal women*, *Am J Health Syst Pharm.* 2010 Apr. 67(7 Suppl 3):S9-19
149. VYSKOČIL, Václav: *Osteoporóza a ostatní nejčastější metabolická onemocnění skeletu*, Galén, 2009, ISBN 978-80-7262-637- 3
150. www.iofbonehealth.org

151. www.meredit.cz, Jak se chránit před sluncem
152. www.gate2biotech.cz/genova-terapie-civilizacnich-chorob
153. www.bezeckaskola.cz/.../580-Vb8-stavba-kosti.jpg
154. www.biol.pmf.hr/.../odg-slike/odg157-2.jpg
155. www.catalog.nucleusinc.com/nucleus/osteoblast
156. www.chmi.cz/meteo/ok/infklim
157. WAUGH,EJ.,LAM,MA.,HAWKER,GA.,McGOWAN,J., PAPAIOANNOU,A., CHEUNG, AM.,HODSMAN, AB., LESLIE,WD, SIMINOSKI,K., JAMAL, SA.: *Risk factors for low bone mass in healthy 40-60 year old women: a systematic review of the literature*, Osteoporos Int, 2009 Jan, 20(1): 1-21
158. WILZEK,H.: *Vitamin D je také parakrinním faktorem. Analogy vitaminu D*, Osteologický bulletin, 1997, 2(1)
159. WAGNER, D., SIDHOM, G., WHITING, S.J., ROUSSEAU, D. and VIETH, R.: *The Bioavailability of Vitamin D from Fortified Cheeses and Supplements Is Equivalent in Adults*, 2008 July, Am Society for Nutrition J Nutr. 138: 1365-1371
160. WEATHERALL,M.: *A meta-analysis of 25- hydroxyvitamin D in older people with fracture of the proximal femur*, N Z Med J, 2000, 113: 137-140
161. WELSH, J.E.: *Targets of Vitamin D Receptor Signaling in the Mammary Gland*, J of Bone and Mineral Research, Dec. 2007,22: V86-V90
162. WILSON, RT, WANG,J., CHINCHILLI, V., RICHIE,JP., VIRTAMMO, J., MOORE,LE., ALBANES, D.: *Fish, vitamin D, and flavonoids in relation to renal cell cancer among smokers*, Am J Epidemiol. 2009 Sep 15:170(6):717-29
163. WORLD HEALTH ORGANISATION: *Guidelines for preclinical evaluation and clinical trials in osteoporosis*, Geneva:WHO 1998

164. WUST et al.: *Effects of Smoking on Tibial and Radial Bone Mass and Strength May Diminish with Age*, J. Clin. Endocrinol. Metab. 2010;95:2763-2771
165. ZIMA, Tomáš: *Laboratorní diagnostika*, Galén, 2002,ISBN- 80-7262-201-3
166. ZERWEKH, J.E.: *The measurement of vitamin D: analytical aspects*, Ann Clin Biochem, 2004, 41: 272-281
167. ZERWEKH, J.E.: *Blood biomarkers of vitamin D status*, Am. J. Clin. Nutr, 2008 Apr, 87(4):1087S-91S
168. <http://www.vitamin-basics.com/index.php?id=38>

9 Seznam příloh

Příloha č. 1: Hospitalizace na zlomeniny proximálního femuru (dg. S72.0 - S72.2) v nemocnicích ČR v letech 1986 - 2008

Příloha č. 2: Vývoj počtu hospitalizací na zlomeniny proximálního femuru v ČR

Příloha č. 3: Počty hospitalizovaných osob v nemocnicích ČR na zlomeniny proximálního femuru v letech 1999 – 2008

Příloha č. 4: osteocyt č. 1, polarizační mikroskop, zvětšení 100 x, pacient 49 let, dg. arthritis uratica

Příloha č. 5: osteocyt č. 2, polarizační mikroskop, zvětšení 200 x, pacient 49 let, dg. arthritis uratica

Příloha č. 6: Trvání slunečního svitu (v hodinách) ve vybraných místech ČR v letech 2000 – 2009

10 Seznam zkratek

ACTH	adrenokortikotropní hormon
ALP	alkalická fosfatáza
ALT	alaninaminotransferáza
AST	aspartátaminotransferáza
BMI	body mass index
BMD	kostní minerální denzita
BMP	kostní morfogenetický protein
CTX	karboxyterminální telopeptid kolagenu typu I
DAD	detektor s diodovým polem
DHEAS	dehydroepiandrosteron sulfát
DM	diabetes mellitus
DPD	deoxypyridinolin
DXA	dvouenergievá rentgenová absorpciometrie
D ₂	ergokalciferol
D ₃	cholecalciferol
25(OH)D ₃	kalcidiol, 25-hydroxycholecalciferol
1,25 (OH) ₂ D ₃	kalcitriol, 1,25 dihydroxycholecalciferol
ECL	elektrochemiluminiscence
EIA	enzymoimunoanalýza
ELISA	enzymem značená imunoanalýza
FRAX	Fracture Risk Assessment
FGF	fibroblastový růstový faktor
FW	sedimentace erytrocytů
GH	růstový faktor
GM- CSF	kolonie stimulující faktor
GMT (GGT)	γ-glutamyltransferasa
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
ICTP (CTX-MMP)	terminální telopeptid kolagenu typu I tvořený metaloproteinázami
IGF	inzulinu podobný růstový faktor
IL	interleukiny
IOF	International Osteoporosis Foundation

KO	krevní obraz
KM	kyselina močová
LRP-5	lipoprotein podobný proteinu 5
NF-AT	nukleární faktor
NTX	aminoterminální telopeptid kolagenu typu I
OC	osteokalcin
ODS	oktadecylsiloxan
OP	osteoporóza
OSX	osterix
PDGF	destičkový růstový faktor
PICP	C- terminální propeptid prokolagenu typu I
PINP	aminoterminální propeptid prokolagenu typu I
PTH	parathyrin, parathormon
PYD	pyridinolin
RIA	radioimunoanalýza
Runx2	transkripční faktor 2
SD	standardní odchylka
SERM	selektivní modulátory estrogenových receptorů
SHBG	sex hormon binding globulin
Sox9	pohlavně determinovaný lokus Y-box 9
SPF	Sun Protection Factor
TGF- β	transformující růstový faktor
TMB	tetramethylbenzidin
TPA	tripropylamin
TSH	thyreoidální hormon
ÚKBP	Ústav klinické biochemie a patobiochemie
UVB	ultrafialové světlo
ÚZIS	Ústav zdravotnických informací a statistiky
VDBP	vitamin D binding protein
WHO	Světová zdravotnická organizace

11 Seznam tabulek, obrázků a grafů

11.1 Obrázky

- č.1 - osteoporotická kost
- č.2 - zdravá kost
- č.3 - složení trabekulární a kortikální kosti
- č.4 - steoblast
- č.5 - osteoklast
- č.6 - expozice slunečního záření
- č.7 - cholekalciferol
- č.8 - ergokalciferol
- č.9 - syntéza vitamínu D
- č.10 –kapalinový chromatograf
- č.11 - ELISA reader
- č.12 - HPLC
- č.13 - záznam analýzy
- č.14 - Cobas e411

11.2 Tabulky

- č. 1 – Přehled diagnóz a anamnestických dat se zvýšeným rizikem vzniku osteoporózy
- č. 2 – Rizikové faktory osteoporózy
- č. 3 - Diagnostické metody u osteoporózy
- č. 4 – Přehled standardních laboratorních vyšetření
- č. 5 – Markery kostní remodelace
- č. 6 – Stručný přehled používaných léků v ČR
- č. 7 – Klasifikace rachitis a osteomalacie
- č. 8 – Třídění podle koncentrace vitamínu D
- č. 9 – Adekvátní příjem vitamínu D
- č.10– Obsah vitamínu D v potravinách

- č.11 – Stanovení hladin vitamínu D na jednotlivých analyzátoch
- č.12 – Hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období – skupina č. 1 – muži v produktivním věku
- č.13 - Hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období – skupina č. 2 – skupina premenopauzálních žen
- č.14 - Hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období – skupina č. 3 – postmenopauzální pacientky s osteopénií
- č.15 - Hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období – skupina č. 4 – postmenopauzální ženy s osteoporózou
- č.16 - Hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období – skupina č. 5 – postmenopauzální ženy bez osteoporózy a bez léčby vitamínem D
- č.17 - Minimální a maximální koncentrace vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období – skupina č. 1/2009 – pacientky s osteopénií na léčbě Vigantolem (cholecalciferol)
- č.18 - Minimální a maximální koncentrace vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období – skupina č. 2/2009 – pacientky s osteopénií na léčbě Vigantolem (cholecalciferol) a Calcichew (Calcii carbonas 1,25g a cholecalciferol 200 IU)
- č.19 - Minimální a maximální koncentrace vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období – skupina č. 3/2009 – pacientky s osteoporózou na léčbě Vigantolem (cholecalciferol) a alendronatem (Acidum alendronicum 70mg)
- č.20 - Minimální a maximální koncentrace vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období – skupina č. 4/2009 – pacientky s osteoporózou na léčbě Vigantolem (cholecalciferol) a Bonvivou (Acidum ibandronicum)
- č.21 - Minimální a maximální koncentrace vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období – skupina č. 5/2009 – pacientky s osteoporózou na léčbě Vigantolem (cholecalciferol) a Fosavance (Acidum alendronicum 70mg + cholecalciferol 2800 IU)
- č.22 - Minimální a maximální koncentrace vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období – skupina č. 6/2009 – pacientky s osteoporózou na léčbě Fosavance (Acidum alendronicum 70mg + cholecalciferol 2800 IU)
- č.23 – Získané průměrné hodnoty 25-OH vitamínu D₃ (nmol/l) v jednotlivých obdobích v závislosti na suplementované dávce vitamínem D

11.3 Grafy

č.1 – Hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období – skupina č. 1 – muži v produktivním věku

č.2 – Hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období – skupina č. 2 – skupina premenopauzálních žen

č.3 – Hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období – skupina č. 3 – postmenopauzální pacientky s osteopénií

č.4 – Hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období – skupina č. 4 – postmenopauzální ženy s osteoporózou

č.5 – Hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období – skupina č. 5 – postmenopauzální ženy bez osteoporózy a bez léčby vitamínem D

č.6 – Hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období – skupina č. 1/2009 – pacientky s osteopénií na léčbě Vigantolem (cholecalciferol)

č.7 – Hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období – skupina č. 2/2009 – pacientky s osteopénií na léčbě Vigantolem (cholecalciferol) a Calcichew (Calcii carbonas 1,25g a cholecalciferol 200 IU)

č.8 – Hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období – skupina č. 3/2009 – pacientky s osteoporózou na léčbě Vigantolem (cholecalciferol) a alendronatem (Acidum alendronicum 70mg)

č.9 – Hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období – skupina č. 4/2009 – pacientky s osteoporózou na léčbě Vigantolem (cholecalciferol) a Bonvivou (Acidum ibandronicum)

č.10 – Hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období – skupina č. 5/2009 – pacientky s osteoporózou na léčbě Vigantolem (cholecalciferol) a Fosavance (Acidum alendronicum 70mg + cholecalciferol 2800 IU)

č.11 – Hladiny vitamínu D₃ (nmol/l) v závislosti na ročním období – skupina č. 6/2009 – pacientky s osteoporózou na léčbě Fosavance (Acidum alendronicum 70mg + cholecalciferol 2800 IU)

12 Publikační aktivita

12.1 Monografie a kapitoly v monografiích

1. Průša, R., Čepová, J., Petrtýlová, K.: Příručka laboratorních vyšetření, naklad. Triton, vydání 1. , 139 stran, ISBN 80-7254-273-7.

2. J. Čepová: Hodnocení stavu výživy pomocí laboratorních vyšetření Kapitola v monografii: J. Nevoral a kolektiv: Výživa v dětském věku, Nakladatelství H&H. První vydání, 2003, 437 stran, ISBN 80-86022-93-5.

3. Průša R., Čepová J., Hrušák O., Chada M., Jabor A., Kolářová I., Nyč O., Petrtýlová K., Šídlová K., Šprongl L.: Orientační rozmezí hodnot laboratorních vyšetření podle věkových skupin. Fakultní nemocnice v Motole, Praha 2000, ISBN 80-238-5473-9.

4. Průša, R., Čepová, J., Petrtýlová, K.: Příručka laboratorních vyšetření, Triton 2002, ISBN 80-7254-273-7

12.2 Články v odborných časopisech

1. Ostadal, P., Alan, D., Hajek, P., Vejvoda, J., Mates, M., Blasko, P., Veselka, J., Kvapil, M., Kettner, J., Wiendl, M., Ascermann, O., Slaby, J., Nemecek, E., Holm, F., Macek, M., Rac, M., Čepová, J.: Fluvastatin in therapy of acute coronary syndrome: Rationale and design of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial (The FACS trial). Curr. Contr. Trials In Cardivasc. Med. 1. , Vol 6., 2005, p. 4, ISSN 1468-6708

2. Čepová, J., Rypáčková, J., Šídlová, K., Kotaška, K., Průša, R.: Metabolic effect of statins on lipid profile. Clin. Chem. Lab. Med., 37, 1999, Special Supplement, p.S257, ISSN 1437-8523.
3. Šídlová K., Slaměník M., Pechová M., Průša R., Čepová J.: Insulin-like growth factor binding protein-3 in patients with liver cirrhosis. Biochemia Medica, Vol. 10, No. 1-2, 2000, ISSN 1330-0962, pp. 91-92.
4. Průša, R., Pova, J., Pechová, M., Čepová, J.: Activated Factor XII (FXIIA) levels in patients Clin. Chem. Lab. Med., 39, 2001, Special Supplement, p.S298, ISSN 1437-8523.
5. Pova, J., Šprongl, L., Čepová, J., Dohnal, K., Průša, R.: Sledování celkové antioxidační kapacity u studentů kuřáků a pacientů s hyperlipoproteinemií, Chem. Listy, roč. 94, No. 8, 2000, 672-673, ISSN 0009-2770
IF 0,278
6. Ostadal P., Alan D, Vejvoda J., Cepova J., Kukacka J., Blasko P., Martinkopvicova L., Vojacek J: Immediate effect of fluvastatin on lipid levels in acute coronary syndrome, Mol Cell Biochem, vol 306, No 1-2, pp19-23, 6/2007, ISSN 0300-8177
IF 1,707
7. Čepová, J. Vitamin D, jeho význam a suplementace vitamínem D u pacientů s osteoporózou , Farmakoterapie 2008,6, s. 657- 661, ISSN 1801-1209
8. Čepová, J.: Vitamin D, jeho význam a suplementace vitamínem D u pacientů s osteoporózou, reprint,

Farmakoterapie , ročník 4, 6/2008, str. 657- 661, ISSN
1801-1209

9. Čepová , J., Pechová, M.: Osteoporóza a
biochemické laboratorní markery, FONS, 2008, 3, s. 28-
31, ISSN 1211-7137

10. Marinov, Z., Čepová, J.: Metabolické parametry
pacientů dětské obezitologické ambulance, Čes.-slov.
Pediat, 2010, roč.65, č.2, s.72-78

12.3 Abstrakta v časopisech, sbornících (a suplementech)

1. Čepová, J., Antoš, F., Wagner, P. : První zkušenosti
s podáváním glutaminu u chronických střevních
onemocnění, souhrny přednášek , X. vědecký kongres -
Interdisciplinární význam nutriční podpory, Akutní
metabolické stavy, 3/1994

2. Čepová, J., Antoš, F., Wagner, P.: Mechanismy
účinku podávání farmakologických dávek glutaminu a
argininu u Crohnovy choroby, sborník přednášek, VIII.
Dny mladých klinických biochemiků 5/1994

3. Průša, R., Hrbáček, J., Lány, J., Čepová, J.:
Computer assisted interpretation of biochemical tests
with regard to the risk of atherosclerosis, 8th Asian-
Pacific congress of Clinical Biochemistry, Book of
abstracts, 1998, P10, 1998

4. Průša, R., Hrbáček, J., Šprongl, L.,
Čepová, J.: Laboratorní informační systém Biolab, sborník
ČSKB, Hradec Králové, s.150-150, 1999

5. Šídlová, K., Čepová, J., Rypáčková, J., Kotaška, K., Průša, R., Šprongl, L.: Vliv hypolipidemik na hladinu Lp(a) v séru. IV. Celostátní sjezd České Společnosti klinické biochemie, 26.-28.9. 1999, Hradec Králové, Sborník str. 123, ISBN 80-238-4522-5.
6. Šídlová, K., Čepová, J., Pova, J., Rypáčková, J., Kotaška, K., Průša, R.: Metabolický efekt fibrátů na lipidové spektrum. FONS - Symposium klinické biochemie, Pardubice, 17. - 19. 9. 2000, Sborník, str. 118.
7. Šídlová, K., Čepová, J., Rypáčková, J., Kotaška, K., Průša, R., Šprongl, L.: Koncentrace Lp(a) při léčbě hypolipidemiky. III. Metabolické dny, 11.-13. 5. 2000, Třešť u Jihlavy, Sborník str. 36, ISBN 80-238-5453-4.
8. Šídlová, K., Slaměník, M., Pechová, M., Průša, R., Čepová, J.: Insulin-like growth factor binding protein-3 in patients with liver cirrhosis. Biochemia Medica, Vol. 10, No. 1-2, 2000, ISSN 1330-0962, pp. 91-92.
9. Průša, R., Pova, J., Pechová, M., Čepová, J.: Activated Factor XII (FXIIA) levels in patients Clin. Chem. Lab. Med., 39, 2001, Special Supplement, p.S298, ISSN 1437-8523.
10. Pova, J., Šprongl, L., Čepová, J., Průša, R.: Sledování celkové antioxidační kapacity u studentů kuřáků a pacientů s hyperlipoproteinemií. Chem. Listy 94, No. 8, 2000, 372-673, ISSN 0009-2770

IF 0,77

11. Prusa, R., Pechova, M., Pova, J., Čepová, J.: Plazmatické hladiny aktivovaného faktoru XII u pacientů s hyperlipidémií, DMEV, roč.4, suppl.4., s.48-48,2001, ISSN 1211- 9326
12. Bronský, J., Průša, R., Čepová, J.: Amylin v souvislosti patobiochemie diabetu mellitu a osteoporózy, Sborník abstrakt FONS, Pardubice, 2003, str. 52.
13. Průša, R., Hrbáček, J., Čepová, J., Kříž A.: Audit sérových hodnot cholesterolu, triacylglycerolů a HDL-cholesterolu v nemocniční dětské populaci, Sborník abstrakt, Sjezd České společnosti pro Aterosklerózu, Plzeň, 2003
14. Průša, R., Bronský, J., Čepová, J., Pechová, M.: A possible role of amylin in the pathogenesis of osteoporosis, Clinical Chemistry, 4.788, roč.49, suppl.6, s.A 126-A126, 2003, ISSN 1056-599X
15. Bronský, J., Pechová, M., Zadina, J., Čepová, J., Bartášková, D.: Amylin- možné využití v léčbě osteoporózy, Masarykova Univerzita, Brno, 2003, s.42, stať ve sborníku
16. Průša, R., Čepová, J., Zadina, J.: Serum levels of cotinine, uric acid and cholesterol in patients of lipid clinic. Atherosklerosa 2004, Sborník abstrakt, str. 105, ISBN 80-239-3523-2

17. Čepová, J., Kukačka, J., Boubelíková, A., Kučerová, M., Průša, R.: Vliv kouření na koncentraci selenu v krvi u pacientů s poruchou lipidového metabolismu, DMEV 7, Suppl 3., 2004, p. 14., ISSN 1211-9326.

18. Čepová, J., Kukačka, J., Průša, R.: Smoking and serum selenium concentration in patient with dyslipidaemia, Congress of European atherosclerosis Society, Prague, 23.4 - 26.4. 2005, Atherosclerosis Supplements 6/1 2005, p.154, ISSN 1567-5688

IF 8,963

19. Zikmundová, K., Kukačka, J., Čepová, J., Kotaška, K., Průša, R.: Vliv léčby hypolipidemiky na sérovou aktivitu matrixových metaloproteináz a koncentraci PAPP-A, DMEV, supplementum 3, ročník 8, 2005, ISSN 1211-9326

20. Kukačka, J., Čepová, J., Průša, R., Kotaška, K.: Smoking is associated with higher cadmium levels in blood but not with lead, Toxicology Letters/Abstracts, Vol. 158, Suppl. 1, ISSN 0378-4274, September 2005

IF 2,430

21. Tošnerová, J., Vokráčková, K., Kukačka, J., Čepová, J., Průša, R.: Vliv kouření na koncentraci stopových a toxických kovů v krvi, sborník Biolab 2005, abstrakta přednášek a posterů

22. Čepová, J.: Vliv kouření na koncentraci toxikologicky významných kovů, Liškutínovy dny Hradec Králové, 6/2007

23. Čepová, J., Boubelíková A., Kučerová, M.: Ženy a muži ve 21. století a jejich snaha o ideální hmotnost, Sborník Konference por sestry, str. 40, ISBN 978-80.02-01960-2, 9/2007

24. Svobodová, K., Jirkovská, P., Pechová, M., Čepová, J.: Preanalytická fáze vitamínu D3, Klinická biochemie a metabolismus, ročník 16 (BCB37), 5/2008, ISSN 1210-7921, str. 142

25. Čepová, J., Kolářová, J., Kotrčová, K., Kotaška, K., Průša, R. : Detekce rizikových polymorfizmů a mutací u rodiny s hyperlipoproteinémií, Vnitř Lék 2009: 55(12): P 20, ISSN -0042-773

IF- zatím není, jde o rok 2009

26. Čepová, J., Kolářová, J. , Pechová, M. : Sezónní výkyvy hladin vitamínu D (cholekalciferolu) v populaci zdravých a osteoporotických pacientů, Klinická biochemie a metabolismus ročník 17 (BCB 38) 9/2009, , ISSN 1210-7921 ,str. 186, P-7 et Osteologický bulletin 2009, č. 3, roč.14, str. 120 et Liškutínovy dny - Hradec Králové , 6/2009 et Vědecká konference 2.LF UK Praha

27. Čepová, J., Kolářová, J., Franěk, T.: Plazmatické hladiny stroncia u pacientů s osteoporózou léčených stroncium ranelátem, : Osteologický bulletin 2009, č.3, roč.14, str. 120, ISSN 1211-3778

28. Kotaška, K., Průša, R., Čepová, J., Kolářová, J.: Klinická biochemie a metabolismus , ročník 17 (BCB

38) 9/2009, ISSN 1210-7921, str. 177, B5-3, ISSN 1210-7921

29. Průša, R., Kotaška, K., Franěk, T., Čepová, J.:
Atherosclerosis Supplements 2009, Vol .10, Issue 12 :
Detection of atherogenetic and thrombogenetic
polymorphism and mutations in patients with
dyslipidemia, ISSN 1567-5688

30. Průša, R., Kotaška, K., Čepová, J., Franěk, T.,
Journal of Diabetes, Vol 1, Supplement 1, 4/2009, ISSN
1753- 0393, A- 75

31. Čepová, J., Osteoporóza :Practicus 8/2009, ročník
8, str.20- 23, ISSN 1211-6645

32. Čepová, J., Pechová, M., Kolářová, J., Bruothová,
J.: Došlo už konečně ke změnám v léčbě osteoporózy
vitamínem D?: Sekundární osteoporóza, 4/2010, ISBN
978-80-87118-02-3

12.4 Jiné publikace

Čepová, J.: Jak jíst a netloustnout, Nakladatelství
Lidové noviny, vydání 1.140 stran., ISBN 80-7106-539-0.

12.5 Přednášková činnost

Osteoporóza , Zlín , 4/2001

Hyperlipoproteinémie, Praha, 3/2001

Obezita , Praha, 3/2001

Terapie vápníkem u osteoporózy , České Budějovice,
5/2001

Novinky v oblasti osteoporózy, Pelhřimov , 9/2001

Nové možnosti léčby u postmenopauzální osteoporózy - Actonel, Kutná Hora, 2/2002

Novinky teorie a praxe terapie alendronátem, Brno 2/2002

Novinky teorie a praxe terapie alendronátem, Znojmo, 4/2002

Osteoporóza - měnící se scéna 2002, Zlín , 9/2002

Hladiny kotininu, kyseliny močové a cholesterolu u pacientů lipidové poradny , Praha, 9/2004

Civilizační choroby v ordinaci PL, Praha 4/2005

Osteoporóza a výživa, Praha, 2/2006

Civilizační choroby, Praha, 2/2006

Hyperlipoproteinémie, Praha , 3/2006

Osteoporóza, Praha, 4/2006

Pagetova choroba, Praha , 4/2006

Obezita ,Praha 10/2006

Výživa, Praha , 11/2006

Civilizační choroby, problematika obezity, Praha, 2/2007

Osteoporóza pro ortopedy, Třeboň, 3/2007

Onemocnění štítné žlázy, Praha , 4/2007

Léčba hyperlipoproteinémií, Praha , 5/2007

Léčba metabolického syndromu, Praha, 6/2007

Ženy a muži ve 21. století, Praha, 9/2007

Výživa, 11/2007

Ženy a muži 21. století a jejich snaha o ideální hmotnost, České Budějovice, 2/2008

Osteoporóza a výživa , Praha , 3/2008

Osteoporóza a laboratorní markery, Praha, 3/2008

Vitamin D a jeho aktivní metabolity v terapii osteoporózy, Plzeň, 4/2008

Laboratorní markery u osteoporózy, Plzeň, 4/2008

Osteoporóza a výživa, Bořanovice, 5/2008

Sledování změn laboratorních markerů při redukci hmotnosti u teenagera, Poděbrady, 11/2008

Výživa a obezita, Bořanovice, 5/2009

Bed-side testing ve fakultní nemocnici, Praha, 5/2009

Osteoporóza u pediatrických pacientů, Hořovice, 9/2009

Plazmatické hladiny stroncia u pacientů léčených stroncium ranelátem, Ostrava, 10/2009

Sezónní výkyvy hladin v populaci zdravých a osteoporotických pacientů, Ostrava, 10/2009

Metabolické parametry pacientů dětské obezitologické ambulance, Hradec Králové, 10/2009

Laboratorní markery v praxi pediatra, Praha, 1/2010

Vitamin D3 v praxi, Praha, 2/2010

Došlo už konečně ke změnám v léčbě osteoporózy vitamínem D?, Plzeň, 4/2010

Vitamin D, Brno, 4/2010

Osteoporóza a deficit vitamínu D u postmenopauzálních žen, 5/2010

12.6 Ostatní

Celoústavní seminář POCT- garant

Tvorba brožury - Nemyslete, na co nemusíte

Tvorba brožury - Co je to osteoporóza

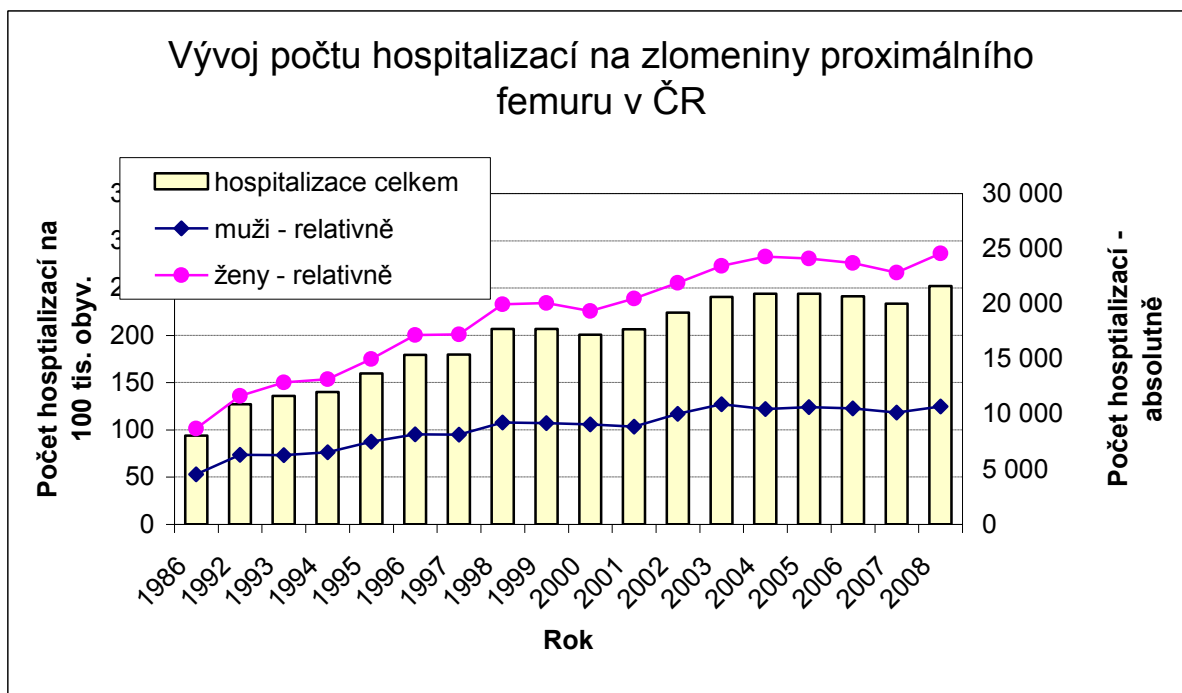
Tvorba tabulky - Dieta ke snížení hladiny kyseliny močové v krvi

Příloha č. 1

Hospitalizace na zlomeniny proximálního femuru (dg. S72.0 - S72.2) v nemocnicích ČR v letech 1986-2008

Rok	Počet případů hospitalizace			Průměrná ošetř. doba (dny)	Počet hospitalizací na 100 000 obyv. dle pohlaví		Počet úmrtí v ne	
	muži	ženy	celkem		muži	ženy	absolutně	h
1986	2 652	5 391	8 043	35,6	52,8	101,3	1 800	
1992	3 688	7 216	10 904	29,2	73,6	135,9	1 658	
1993	3 673	7 971	11 644	27,0	73,2	150,0	1 518	
1994	3 823	8 165	11 988	23,9	76,1	153,6	1 392	
1995	4 384	9 295	13 679	20,8	87,3	175,0	1 435	
1996	4 770	10 605	15 375	20,4	95,1	200,1	1 434	
1997	4 761	10 627	15 388	18,4	95,0	200,8	1 227	
1998	5 402	12 314	17 716	17,0	107,9	232,9	1 190	
1999	5 347	12 361	17 708	15,6	106,9	234,1	1 088	
2000	5 279	11 902	17 181	16,1	105,6	225,7	963	
2001	5 155	12 525	17 680	15,9	103,5	238,8	1 019	
2002	5 803	13 383	19 186	16,0	116,9	255,6	1 032	
2003	6 312	14 312	20 624	15,2	127,1	273,5	1 043	
2004	6 069	14 834	20 903	16,1	122,1	283,3	1 069	
2005	6 182	14 741	20 923	16,2	123,9	281,2	1 160	
2006	6 142	14 524	20 666	16,3	122,5	276,5	1 109	
2007	5 971	14 049	20 020	16,8	118,3	266,4	1 010	
2008	6 384	15 233	21 617	16,1	124,9	286,5	1 015	

Příloha č.2



Příloha č. 3

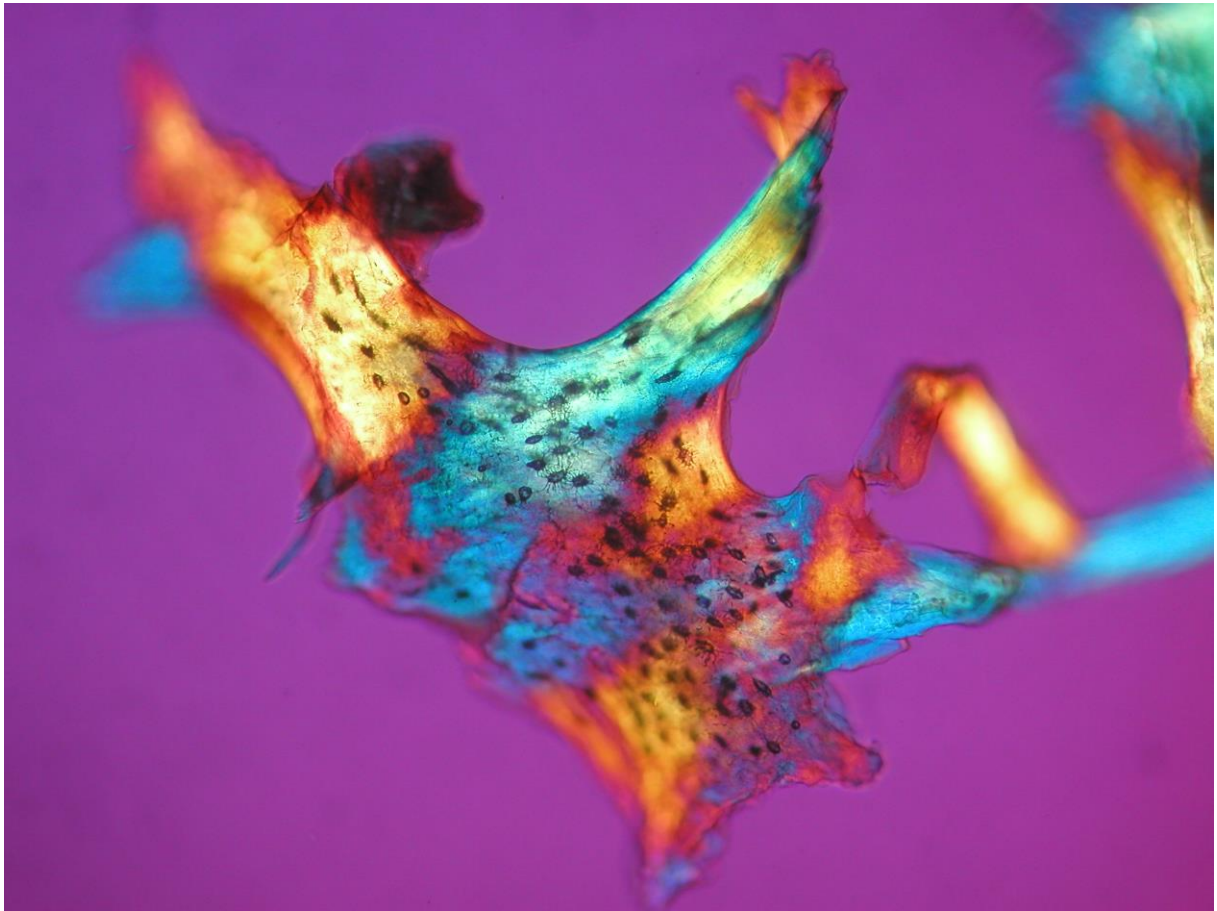
Počty hospitalizovaných osob v nemocnicích ČR na zlomeniny proximálního femuru v letech

Základní diagnózy (dg. S72.0 - S72.2) celkem

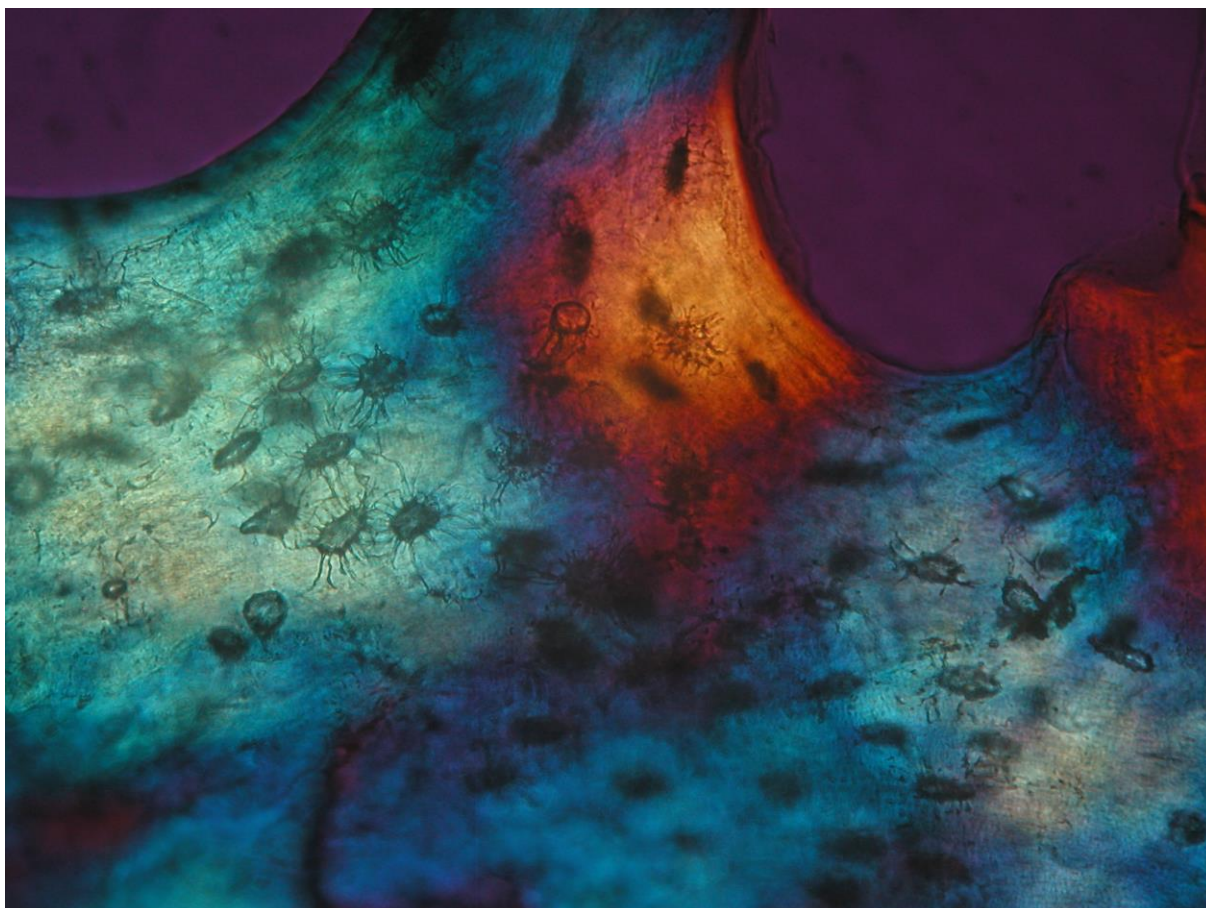
Rok	m u ž i			ž e n y			m u ž i	
	počet osob	počet oš. dnů	prům. oš. doba	počet osob	počet oš. dnů	prům. oš. doba	počet osob	počet oš. dnů
1999	3 660	48 546	13,3	8 275	131 981	15,9	11 935	131 981
2000	3 652	50 222	13,8	8 023	130 529	16,3	11 675	130 529
2001	3 621	47 665	13,2	8 360	130 640	15,6	11 981	130 640
2002	3 998	53 044	13,3	8 808	139 863	15,9	12 806	139 863
2003	4 088	49 485	12,1	8 955	133 878	15,0	13 043	133 878
2004	4 099	54 097	13,2	9 542	142 176	14,9	13 641	142 176
2005	4 144	53 259	12,9	9 667	142 828	14,8	13 811	142 828
2006	4 059	50 352	12,4	9 427	139 173	14,8	13 486	139 173
2007	3 898	49 487	12,7	8 888	133 105	15,0	12 786	133 105
2008	4 102	49 871	12,2	9 406	131 778	14,0	13 508	131 778

Poznámka: Data pouze za první hospitalizace osoby dle RČ v daném roce.

Příloha č. 4 - osteocyt č.1, polarizační mikroskop, zvětšení 100x, pacient 49 let, dg. arthritis uratica



Příloha č. 5 - osteocyt č. 2, polarizační mikroskop, zvětšení 200x, pacient 49 let, dg. arthritis uratica



Příloha č. 6

Trvání slunečního svitu (v hodinách) ve vybraných místech ČR v letech 2000 – 2009

(údaje převzaty ze stránek ČHMÚ – odbor klimatologie

<http://www.chmi.cz/meteo/ok/infklim.html>) (156)

Sledované místo	Rok/měsíc	Hodiny slunečního svitu										
		I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.
Praž Ruzyně	2000	58,3	88,9	101,5	205,7	298,2	300,6	130,6	255,3	159,5	80,4	81,2
	2001	51,4	107,9	79,8	161,1	280,7	204,1	254,9	229,2	86,1	107,0	80,0
	2002	72,0	104,9	135,4	168,3	227,4	262,9	237,8	219,3	160,4	86,2	31,2
	2003	56,9	137,4	160,4	236,7	266,4	333,7	237,1	311,3	195,9	123,6	82,0
	2004	64,0	69,6	128,4	200,8	208,1	213,3	246,0	242,4	198,0	138,0	53,6
	2005	83,0	69,8	147,9	203,4	263,2	258,0	235,2	193,8	195,8	159,8	21,1
	2006	85,7	90,5	115,4	162,6	225,0	273,6	336,6	130,6	243,2	150,7	54,0
	2007	59,7	66,1	150,5	287,5	242,5	236,2	223,5	211,6	151,6	106,8	55,1
	2008	56,6	119,5	124,7	144,0	239,0	245,4	210,8	213,2	150,8	121,6	62,0
	2009	36,7	40,9	70,4	273,8	194,4	165,6	215,5	266,3	188,6	68,1	78,4
2010	37,3	56,3	147,8	225,5	99,0							

Sledované místo	Rok/měsíc	Hodiny slunečního svitu										
		I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.
Brno Tuřany	2000	56,9	97,4	98,7	251,7	309,1	345,6	175,2	287,0	155,6	107,3	65,2
	2001	57,4	122,7	81,9	187,7	313,0	207,2	229,6	289,7	61,7	82,2	71,7
	2002	55,6	82,7	183,4	169,5	238,3	291,4	288,0	221,2	174,5	89,4	44,7
	2003	42,2	146,3	177,4	226,7	294,7	319,2	230,2	320,3	214,8	104,34	59,0
	2004	80,3	92,8	103,5	188,5	200,4	197,9	230,9	256,9	206,9	108,7	65,4
	2005	74,5	68,8	168,3	212,4	278,2	270,5	219,9	214,5	191,2	163,8	65,2
	2006	89,0	68,3	122,6	181,3	198,3	251,1	333,2	155,0	240,9	186,8	55,5
	2007	57,3	66,6	151,1	301,5	236,0	239,5	268,9	248,6	160,6	101,2	53,4
	2008	47,6	107,6	139,1	182,6	219,6	238,1	217,7	234,0	155,4	84,8	59,8

	2009	38,6	28,6	82,3	300,5	229,4	178,3	272,7	267,8	189,0	81,7	56,7
	2010	35,0	50,0	160,9	231,8	93,0						

Sledované místo	Rok/měsíc	Hodiny slunečního svitu										
		I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.
Kuchařovice	2000	62,9	123,3	102,5	263,3	284,1	334,9	160,6	273,5	163,8	112,0	67,3
	2001	55,3	132,5	91,1	173,1	315,1	227,0	236,9	290,5	80,2	89,1	83,9
	2002	70,8	102,5	196,9	173,4	245,2	292,5	276,2	227,7	187,8	106,6	40,7
	2003	55,5	135,7	171,6	225,4	288,6	332,8	261,3	314,6	232,5	119,1	65,6
	2004	90,4	95,5	124,7	191,8	208,4	192,6	226,6	254,9	199,0	100,9	66,8
	2005	94,2	83,1	175,4	212,1	268,9	254,2	205,1	206,8	178,7	169,8	34,5
	2006	76,9	82,5	106,3	147,0	180,3	225,4	272,3	141,9	235,6	175,0	53,6
	2007	73,0	71,2	152	297,7	225,1	246,7	263,1	227,5	163,7	111,4	57,9
	2008	56,3	124,1	142,5	175,0	250,6	228,1	204,9	231,2	151,0	99,1	55,8
	2009	50,8	34,3	86,0	291,3	225,9	168,3	267,5	271,8	206,1	93,5	53,8
	2010	34,1	52,6	172,9	237,6	112,4						

Červeně jsou vyznačeny nejvyšší hodnoty trvání slunečního svitu v hodinách
Modře jsou vyznačeny nejnižší hodnoty trvání slunečního svitu hodinách

