Witamina D – rekomendacje czy też konieczność indywidualizacji dawek?

Vitamin D – recommendations or the need for individualization of dosage?

^{1,2}Witold Kołtątaj, ³Barbara Kołtątaj, ^{1,2}Maria Klatka, ²Katarzyna Wrzolek, ²Aleksandra Krzewska

¹Klinika Endokrynologii i Diabetologii Dziecięcej UM w Lublinie,

²Uniwersytecki Szpital Dziecięcy w Lublinie, ³Katedra i Zakład Epidemiologii UM w Lublinie

¹Department of Paediatric Endocrinology and Diabetology, Medical University of Lublin, ²Children's University Hospital in Lublin, ³Chair and Department of Epidemiology, Medical University of Lublin

Słowa kluczowe

witamina D, rekomendacje, hipowitaminoza, indywidualizacja, dawkowanie

Key words

Vitamin D, recommendations, hypovitaminosis, individualisation, dosage

Streszczenie

Z uwagi na powszechny niedobór witaminy D w krajach Europy Środkowej obowiązują rekomendacje sugerujące konieczność stosowania suplementacji cholekalcyferolu. **Cel.** Celem niniejszej pracy była ocena skuteczności profilaktyki niedoboru witaminy D stosowanej u dzieci młodzieży, u których rozpoznano hipowitaminozę D przy braku danych z wywiadu sugerujących ryzyko hipowitaminozy i wskazań do oznaczania poziomu 25OHD (wytyczne suplementacji z 2013 r.). **Materiał.** Badaniem objęto 105 dzieci i nastolatków – pacjentów Kliniki Endokrynologii i Diabetologii Dziecięcej oraz Poradni Endokrynologicznej Uniwersyteckiego Szpitala Dziecięcego im. A. Gębali w Lublinie. Osoby te uprzednio nie przyjmowały suplementacyjnych dawek witaminy D₃. **Metody.** Po stwierdzeniu hipowitaminozy pacjenci otrzymywali doustne dawki cholekalcyferolu – 1000 j.m./dobę przez okres nie krótszy niż 6 tygodni, a następnie ponownie mieli oznaczane surowicze poziomy 25OHD. U wszystkich stosowano preparat handlowy witaminy – Vigantoletten tabl. a' 1000 j.m. Wyniki. 47 badanych (ok. 45%) nie miało wystarczająco skutecznej substytucji cholekalcyferolu pomimo suplementacji prowadzonej zgodnie z rekomendacjami, a tylko 42 osoby (40%) miały stężenia 25OHD przekraczające 35 ng/ml. Analiza zależności: masa ciała i powierzchnia ciała a przyrosty surowiczego stężenia 25OHD wskazują na fakt, iż wpływ doustnej dawki witaminy D₃ na surowiczy poziom 25OHD jest osobniczo zmienny.

Abstract

Due to the general lack of vitamin D, in the countries of Central Europe, there are published recommendations suggesting the need for supplementation of cholecalciferol. **Objective.** The aim of this study was to evaluate the effectiveness of prevention of vitamin D deficiency in children and adolescents suffering from hypovitaminosis D in the absence of medical history suggesting the risk of hypovitaminosis and indications for determining the levels of 25OHD (guidelines on cholecalciferol supplementation published in 2013). **Material.** The study included 105 children and adolescents – patients of the Department of Paediatric Endocrinology and Diabetology as well as Endocrinology Clinic of the University Children's Hospital in Lublin. These patients had not taken suggested vitamin D₃ supplementations before. **Methods.** Patients with diagnosed hypovitaminosis D have been receiving oral doses of cholecalciferol – 1000 IU/day for a period of not less than six weeks. Then their serum levels of 25OHD were checked again. All of them have been treated with vitamin D product under the trade name Vigantoletten tablets 1000 IU. **Results.** 47 patients (approx. 45%) did not have a sufficiently effective cholecalciferol substitution despite supplementation conducted in accordance with the recommendations, and only 42 people (40%) had serum 25OHD concentrations exceeding 35 ng/ml. Analysis of the body weight, body surface area and increments in serum 25OHD levels relationships do

Wnioski. 1. Zastosowanie rekomendowanych dawek profilaktycznych witaminy D₃ nie daje pewności uzyskania pożądanych osoczowych poziomów 25OHD u wszystkich przedstawicieli populacji. 2. U 45% badanych, u których stwierdzono niedobór witaminy D, suplementacja opierająca się na podawaniu rekomendowanych dawek witaminy D₃ nie dała normalizacji osoczowych stężeń 25OHD. 3. Należy dążyć do indywidualizacji profilaktycznych dawek suplementacyjnych i rozszerzenia listy osób, u których suplementacja powinna być poprzedzona oznaczeniem przynajmniej osoczowego stężenia 25OHD.

Endokrynol. Ped. 2015.14.1.50.11-21.

© Copyright by PTEIDD 2015

not allow for accurate prediction of oral cholecalciferol supplementation results. **Conclusions.** 1. The recommended prophylactic doses of vitamin D₃ do not provide for obtaining the desired plasma 25OHD levels in all subjects applying the recommended vitamin D₃ supplementation. 2. In 45% of patients with diagnosed vitamin D deficiency, the 25OHD serum levels have not been normalized despite taking recommended prophylactic doses of vitamin D₃. 3. It should be taken under consideration individualization of vitamin D supplementation and expanding the list of indications to (at least) serum levels of 25OHD checking prior to start of vitamin D supplementation.

Pediatr. Endocrinol. 2015.14.1.50.11-21.

© Copyright by PTEIDD 2015

Wstęp

Witamina D to grupa rozpuszczalnych w tłuszczach związków chemicznych o budowie steroidowej, będących prekursorami wielu istotnych substancji aktywnych o właściwościach hormonalnych. W grupie tej znajdują się witaminy • D₁ (mieszanina witamin D₂ i D₃) • D₂ (ergokalcyferol, ergocalciferol, (3β,5Z,7E,22E)-9,10-secoergosta-5,7,10(19),22-tetraen-3-ol) • D₃ (cholekalcyferol, cholecalciferol, (3β,5Z,7E)-9,10-secocholesta-5,7,10(19)-trien-3-ol) • D₄ (22,23-dihydroergocalciferol, 22dihydrokalcyferol) • D₅ (sitocalcyferol, czyli (5Z,7E)-9,10-Secostigmasta-5,7,10(19)-trien-3beta-ol, 24R-methylcalciol) • D₆ ((5Z,7E,22E)-(3S)-9,10-seco-5,7,10(19),22-poriferastetraen-3-ol) • D₇ (9,10-Secoergosta-5(Z),7(E)-,10(19)-trien-3beta-ol) [1].

Biorąc pod uwagę aktywność biologiczną, jaką przejawiają aktywne pochodne poszczególnych witamin D (analizując jedynie wpływ na stan gospodarki Ca-P), za witaminę o największej biologicznej aktywności uważa się witaminę D₃, a następnie (w kolejności malejącej aktywności): D₄, D₆, D₂, i D₅ [1]. Witamina D₇ ma znikome znaczenie biologiczne.

Dotychczas najlepiej poznano fizjologiczne znaczenie następujących witamin D: ergokalcyferolu (witamina D₂) oraz cholekalcyferolu (witamina D₃), a także stosunkowo mało aktywnej biologicznie witaminy D₄ (obecnej między innymi w tkance niektórych grzybów oraz syntetyzowanej w skórze ssaków pod wpływem promieniowania ultrafioletowego) oraz witaminy D₇ [2]

Rola witaminy D

Tradycyjnie już witamina D uważana jest za prekursor hormonów (aktywne metabolity witaminy D- nie tylko 1,25(OH)₂D ([1 alpha, 25-(OH)₂D₃] ale i 1,24,24(OH)₃D [3] oraz 1α,25-dihydroxy-3-epi-vitamin-D₃ (1α,25(OH)₂-3-epi-D₃) [4]).

Dziś w programach naukowo-badawczych i terapii stosowane są syntetyczne analogi, które rozszerzają gamę naturalnych aktywnych metabolitów witaminy D. Są to między innymi • 5,6-trans-cholecalciferol [5] • eldecalcitol [1α,25-dihydroxy-2β-(3-hydroxy-propyloxy) vitamin D₃; 2beta (3-hydroxypropoxy) calcitriol; ED-71] [6,7] • calcipotriol (MC 903) [8] • dihydroxylated 19-nor-(pre)vitamin D₃ [9].

Zwyczajowo aktywne metabolity witaminy D zaliczane są do grupy hormonów kalciotropowych (ang. *calcitropic hormones*, *calcium regulating hormones*) obok m.in. kalcytoniny, PTH, PTHrP, ale także prolaktyny i stanniokalcyny [10,11]. W nieco szerszym ujęciu metabolity witaminy D uważane są także za regulatory gospodarki PO₄, chlorkowej, kwasowo-zasadowej i magnezowej. Takie podejście do tematu uwzględnia głównie rolę witaminy D w aspekcie jej działania pozagenomowego (wpływ na receptory błonowe i cytoplazmatyczne [12]).

W rzeczywistości aktywność biologiczna witaminy D przejawia się także poprzez działania genomowe (po połączeniu z receptorami jądrowymi witamina D łączy się z jądrowym receptorem witaminy D (*Vitamin D Receptor*; *VDR*), a następnie tworzy heterodimer z receptorem kwasu 9-cis retinowego (*retinoid X receptor*; *RXR*) o właściwościach czynnika transkrypcyjnego), przez co fizjologiczna rola aktywnych

metabolitów cholekalcyferolu przejawia się także we wpływie na ekspresję genów. Dotychczas udowodniono wpływ aktywnych metabolitów witaminy D na funkcję/ekspresję przynajmniej 229 genów [13], w tym IRF8 (mających związek z rozwojem stwardnienia rozsianego) i PTPN2 (mającego związek z rozwojem choroby Crohna i cukrzycy typu 1).

Działanie genomowe (lub jego brak w razie niedoborów witaminy D) może łączyć się z etiopatogenezą wielu schorzeń, w tym [14–27]: 1) nowotworowych, 2) autoimmunologicznych (choroby z grupy kolagenoz, cukrzyca typu 1), 3) psychiatrycznych (autyzm, depresja), a także 4) neurodegeneracyjnych (stwardnienie rozsiane, choroba Alzheimera), 5) miażdżycy, 6) nadciśnienia tętniczego, 7) zaburzeń płodności, 8) otyłości i nadwagi, 9) cukrzycy typu 2, 10) zaburzeń rozwoju i wzrastania, w tym zaburzeń dojrzewania.

Świadomość tego faktu pozwala uznać witaminę D za jeden z ważniejszych czynników mających wpływ na prawidłowy rozwój i utrzymanie zdrowia człowieka, a niedobory witaminy D w populacji – za czynnik negatywnie wpływający na takie wskaźniki populacyjne, jak zdrowotność, wskaźniki umieralności, zachorowalności i chorobowości, zwłaszcza w odniesieniu do wielu chorób uznawanych dziś za choroby cywilizacyjne.

Przyczyny niedoboru witaminy D

Witamina D stanowi grupę prohormonów pochodzenia głównie egzogenego. Podstawowym źródłem związków z tej grupy jest dla organizmu ludzkiego pokarm. Istnieje co prawda możliwość syntezy skórnej prowitaminy D_3 ulegającej konwersji do cholekalcyferolu, ale (jak należy z całą mocą podkreślić) w naszej szerokości geograficznej to pokarm jest głównym źródłem witaminy D dla człowieka. Ostatnie lata obfitują w publikacje, w których dokładnie oszacowana została wielkość syntezy skórnej w krajach półkuli północnej. Dane te wydają się obalać dotychczasowe teorie sugerujące, iż synteza skórna w strefach klimatu podzwrotnikowego i umiarkowanego może pokrywać dobowe zapotrzebowanie na cholekalcyferol. Biorąc pod uwagę uwarunkowania kulturowe i zmieniające się preferencje dotyczące ubioru i czasu spędzanego na wolnym powietrzu (ubiór zasłaniający większą powierzchnię skóry – nawet w okresie letnim, stopniowa redukcja czasu spędzanego na wolnym powietrzu, preferowanie zamkniętych klimatyzowanych pomieszczeń w miesiącach letnich) oraz rosnącą

obawę przed ryzykiem zdrowotnym nadmiernej ekspozycji na promieniowanie słoneczne, prowadzącą m.in. do powszechnego używania kremów z filtrami UV (filtry takie redukują syntezę skórą nawet o 90–95% [28]), w USA wielkość dobowej syntezy skórnej witaminy D_3 zarówno u dzieci, jak i dorosłych ocenia się ostatnio na nie więcej niż 600 IU/dobę [29,30]. Znając realne możliwości syntezy skórnej cholekalcyferolu w organizmie ludzkim i zagrożenia, jakie niesie promieniowanie ultrafioletowe obecne w widmie promieniowania słonecznego, Amerykańska Akademia Dermatologii wzywa ludzi, aby nie dostarczali witaminy D drogą syntezy skórnej ze względu na zwiększone ryzyko zachorowania na raka skóry podczas ekspozycji na promienie UV [31].

W naszej strefie kulturowej podstawowym źródłem pokarmowym cholekalcyferolu są nabiał i ryby morskie. Zmiany nawyków żywieniowych

- mniejsze spożycie nabiału
- małe spożycie ryb
- preferowanie pokarmów przetworzonych
- ograniczanie spożycia mleka i produktów mlecznych z przyczyn zdrowotnych (coraz częstsze przypadki nietolerancji pokarmowych)
- wreszcie zmiany w sposobie hodowli zwierząt mlecznych: względy sanitarne nakazują zastąpienie hodowli pastwiskowej hodowlą w pomieszczeniach zamkniętych, a więc bez możliwości ekspozycji zwierząt na światło słoneczne i promieniowanie UV, co drastycznie redukuje możliwości syntezy skórnej witaminy D_3 (synteza odbywa się także w obrębie skóry owłosionej zwierząt [32]), powodując, iż spada zawartość cholekalcyferolu w mleku przeznaczonym do spożycia i dalszego przetwarzania – są przyczyną narastającego problem niedoboru witaminy D.

Porównanie zawartości cholekalcyferolu w mleku produkowanym w latach siedemdziesiątych i osiemdziesiątych ubiegłego wieku oraz obecnie wskazuje na drastyczne zmniejszenie zawartości cholekalcyferolu w mleku i produktach pochodzenia mlecznego oferowanych do sprzedaży w ostatnich latach. Dane z lat 2009–2013 sugerują obecność witaminy D_3 w mleku krowim (niewzbogacanym! w witaminę D) na poziomie 0,8–16 U/l [33–35], podczas gdy we wspomnianych latach ubiegłego wieku zawartość ta oceniana była średnio na 40 U/l [36].

W związku z tym, w niektórych krajach podejmowane są próby wzbogacania mleka (ang. *fortification*) spożywczego i produktów pochodzenia mlecznego (margaryny mleczne, jogurty) tak, aby zawartość cholekalcyferolu zbliżona była do 105- (115–124) IU w 250 ml mleka [37,38] w USA

i około 176 IU w 250 ml mleka lub 530 IU w 100 g margaryny w Kanadzie [37]. Wzbogacanie mleka nie jest jednak powszechne, z drugiej strony nie wszyscy (z różnych powodów) decydują się na systematyczne spożywanie nabiału. Stąd coraz częstsze staje się stosowanie farmakologicznych preparatów cholekalcyferolu.

Rekomendacje

Biorąc pod uwagę potrzeby populacyjne, tworzone są rekomendacje dotyczące suplementacji witaminy D₃. Rekomendacje sugerują podawanie witaminy D₃ (nie D₂ lub innych witamin z tej grupy) i określają sumaryczną dobową podaż cholekalcyferolu. Zróżnicowanie sugerowanych dawek dobowych uwzględnia wiek, stan odżywienia, ogólny stan zdrowia (choroby i leki wpływające na wchłanianie, zapotrzebowanie i metabolizm witaminy D).

Teoretycznie suplementacja powinna być prowadzona w taki sposób, aby podaż witaminy D₃ spowodowała pełne indywidualne pokrycie zapotrzebowania na ten prohormon. Przy obecnym stanie wiedzy za jedyny i wiarygodny wskaźnik pokrycia zapotrzebowania na witaminę D₃ uznaje się stężenie 25OHD w surowicy krwi [39, 40]. Suplementacja kontrolowana przez stężenia tego metabolitu w surowicy krwi miałaby charakter działania indywidualizowanego, a przez co z punktu widzenia ponoszonych nakładów finansowych kosztownego (koszt jednorazowego oznaczenia stężenia 25OHD w surowicy krwi to około 70 PLN brutto [41, 42]).

Niestety nie tylko finanse stoją na drodze do powszechnego, precyzyjnego monitorowania jakości suplementacji poprzez określenie surowiczych poziomów 25OHD. Na przeszkodzie stoi także niedoskonałość metody, a konkretnie jej wariantu zaakceptowanego do komercyjnego zastosowania. Obecnie stosuje się co prawda sześć metod oznaczania stężeń 25OHD: immunoenzymatyczną i elektrochemiluminescencji (mniej wiarygodne), radioimmunologiczną oraz trzy inne: HPLC (ang. *high-performance liquid chromatography*, wysokosprawna chromatografia cieczowa), GC-MS (ang. *gas chromatography-mass spectrometry*, chromatografia gazowa z układem spektrometru masowego) i LC-MS (ang. *liquid chromatography-mass spectrometry*, chromatografia cieczowa z układem spektrometru masowego), które okazują się metodami znacznie dokładniejszymi, ale zdecydowanie zbyt drogimi.

Oznaczanie 25OHD w surowicy popularnymi metodami komercyjnymi, opartymi na technikach immunoenzymatycznych i elektrochemiluminescencji, jest procedurą względnie tanią, ale prowadzącą do uzyskania wyników dość trudnych w interpretacji, a to z trzech przyczyn: 1) występowania w surowicy zarówno pochodnych witaminy D₂, jak i D₃; 2) występowania w surowicy nieaktywnych biologicznie stereoizomerów: 3-epi-25OHD₂ i 3-epi-25OHD₃; 3) dużej hydrofobowości 25OHD, co sprzyja pojawieniu się interferencji ze strony licznych składników surowicy (ang. *effect matrix*).

Wynik oznaczenia 25OHD będący następstwem zastosowania właśnie takiej metody diagnostycznej odzwierciedla sumę stężeń 25OHD₂, 25OHD₃, ich nieaktywnych stereoizomerów jak i ewentualnie innych niemających związku z aktywnością biologiczną reprezentowaną przez witaminę D, np. 7α-hydroxy-4-cholesten-3-one (7αC4) [43]. Zwykle głównym składnikiem w tego typu oznaczeniach jest 25OHD₃.

U dorosłych stężenie 3-epi-25OH D₃ nie jest skorelowane z wiekiem, ale zwykle im wyższe stężenie 25OHD₃, tym większa ilość epimeru (na ogół nie więcej niż kilka procent całkowitego stężenia 25OHD). W wieku ponimowlęcym obecność C-3 epimerów w surowicy krwi nie dyskwalifikuje rutynowych metod oznaczania 25OHD. C-3 epimeryzacja stanowi problem u niemowląt i matek w końcowej fazie ciąży. Stężenie 3-epi-25OHD u niemowląt stanowić może 8,7%–61,1% całkowitego stężenia 25OHD [44].

Panujące nadal przekonanie, iż witamina D pełni głównie rolę hormonu kalciotropowego, mającego swój udział przede wszystkim w jakości tkanki kostnej, ma swoje odzwierciedlenia w obowiązujących normach stężeń 25OHD. W Polsce za pożądanie (optymalne) uznaje się stężenie 30–80 ng/ml 25OHD w surowicy krwi. Tam, gdzie witaminę D i jej metabolity postrzega się bardziej poprzez jej genomowe działanie, pojawia się presja preferowania poziomów, w których takie efekty stają się widoczne – szczególnie w aspekcie populacyjnego zmniejszenia ryzyka takich chorób, jak choroby nowotworowe, neurodegeneracyjne i autoimmunologiczne [45]. Na przykład opiniotwórczy portal „Vitamin D Council” (<http://www.vitamindcouncil.org/#>) publikuje sugestie, aby za optymalne uważać poziomy 50–80 ng/ml.

Jak już wspomniano, z uwagi na znaczne koszty związane z oznaczeniem 25OHD w postępowaniu profilaktycznym zwykle stosuje się tańsze sposoby

poprawy sytuacji populacyjnej, związanej z powszechnym niedoborem witaminy D (w domyśle, głównie D₃).

W wielu krajach, w tym i w Polsce, obowiązują rekomendacje określające zalecaną dobową podaż witaminy D₃. W Polsce od roku 2013 są to rekomendacje opublikowane pod nazwą *Wytyczne suplementacji dla Europy Środkowej: Rekomendowane dawki witaminy D dla populacji zdrowej oraz dla grup ryzyka deficytu witaminy D* [46].

Cele

Celem niniejszej pracy była ocena skuteczności profilaktyki niedoboru witaminy D stosowanej u dzieci i nastolatków w wieku 2–18 lat życia, u których nie ma danych z wywiadu sugerujących konieczność wstępnego oznaczania poziomu 25OHD [46] (choroby i leki mające wpływ na wchłanianie i metabolizm cholekalcyferolu) przed rozpoczęciem rekomendowanej suplementacji.

Materiał

Badaniem objęto 105 dzieci i nastolatków – pacjentów Kliniki Endokrynologii i Diabetologii Dziecięcej oraz Poradni Endokrynologicznej Uniwersyteckiego Szpitala Dziecięcego im. A. Gębali w Lublinie, kierowanych do diagnostyki i leczenia z powodu niskorosłości lub spowolnienia tempa wzrastania. Dane z wywiadu nie sugerowały obecności schorzeń umieszczonych na liście wskazań do oznaczania poziomu 25OHD (25 hydroksy cholekalcyferol) przed rozpoczęciem suplementacji (lista załączona do wytycznych suplementacji witaminą D₃ dla Europy Środkowej z roku 2013 [46]).

Wspomniani pacjenci zakończyli dotychczasową suplementację witaminy D w okresie poniewolnym (zgodnie z uprzednio obowiązującymi zasadami podaży witaminy D₃, rekomendacje związane były wyłącznie z profilaktyką krzywicy z niedoboru witaminy D).

Obserwacją objęto tylko tych pacjentów, u których stwierdzono hipowitaminozę D, mianowicie poziom w ich 25OHD w surowicy krwi wynosił: średnio 20,91 ng/ml (s.d. 10,65, min. 5,80, max. 29,60) – rycina 1.

Wśród badanych było 50 osób płci męskiej i 54 żeńskiej. Wiek średnio 9,8 lat, s.d. 5,74 (min. 2, max. 18), wysokość ciała – średnio 131,9 cm, s.d. 57,56 (min. 86, max. 183); masa ciała średnio 32,52

kg, s.d. 19,42 (min. 10, max. 65), powierzchnia ciała średnio 1,12 m², s.d. 0,35 (min. 0,49, max. 1,76). BMI średnio 17,22 kg/m², s.d. 3,09 (min. 11,54, max. 23,78).

Ryc. 1. Stężenie 25OHD w surowicy krwi pacjentów z hipowitaminozą D przed rozpoczęciem doustnej substytucji cholekalcyferolu

Fig. 1. 25OHD concentration in the serum of patients with hypovitaminosis D before oral cholecalciferol substitution

Metody

W celu zbadania stanu pokrycia zapotrzebowania na witaminę u pacjentów dokonywano oceny osoczowego stężenia 25OHD – głównego mierzalnego metabolitu witaminy D. Osoczowe stężenie 25OHD określano stosując powszechnie obecnie akceptowaną komercyjną metodę diagnostyczną – metodę automatyczną opartą na chemiluminescencji, która podaje wynik łączny osoczowych stężeń 25OHD₂, 25OHD₃ i 3epi- 25OHD. Z uwagi na fakt, iż u dzieci > 2 lat, 3-epi-25OHD₂ i 3-epi-25OHD₃ stanowią zwykle nie więcej niż kilka procent ogólnego osoczowego stężenia 25OHD (średnio ok. 3%-6,5%)[44, 47] – wiarygodność i dokładność takich metod jest uznana za wystarczającą [48].

Po stwierdzeniu hipowitaminozy (rycina 1 – histogram stężeń 25OHD w grupie badanej) i zakwalifikowaniu do grupy badanej wszyscy pacjenci, zgodnie z zasadami określonym w rekomendacjach [46], otrzymywali doustne dawki cholekalcyferolu – 1000 j.m./dobę przez okres nie krótszy niż 6 tygodni (okres półtrwania 25OHD w surowicy krwi wynosi 21 [49], a więc okres 6 tygodni był wystarczający do uzyskania stabilnych poziomów 25OHD). Po tym okresie ponownie oznaczano oso-

czowe stężenie 25OHD. U wszystkich stosowano identyczny preparat handlowy witaminy (Vigantolletten tabl. a' 1000 j.m.).

Wyniki

W wyniku zastosowanej substytucji – 1000 j.m. cholekalcyferolu doustnie przez okres nie krótszy niż 6 tygodni stężenia 25OHD w surowicy krwi badanych zwiększyły się średnio o 12,51 ng/ml (s.d. 10,03, min. 0,60, max. 53,70) – rycina 2.

Ryc. 2. Wzrost stężenia 25OHD w surowicy krwi badanych pacjentów w trakcie substytucji cholekalcyferolu – doustna podaż cholekalcyferolu w dobowej dawce 1000 j.m.

Fig. 2. Increment in serum concentration of 25OHD in patients during the cholecalciferol substitution – oral daily intake of cholecalciferol: 1000 IU

Tego typu wzrost stężenia 25OHD nie dał pełnej normalizacji wyników (optymalne stężenia 30–80 ng/ml) u wszystkich badanych, mimo iż średnia wartość 25OHD wzrosła z 20,91 ng/ml do 33,55 ng/ml (s.d. 17,97, min. 8,50, max. 65,00). Ilustruje to rycina 3, w której osiągnięte wartości 25OHD w surowicy krwi badanych przedstawione zostały w postaci histogramu.

Analiza danych przedstawionych w postaci histogramu (ryc. 3) wskazuje na to, iż 47 badanych (ok. 45%) nie miało wystarczająco dobrego pokrycia zapotrzebowania na cholekalcyferol (25OHD w surowicy krwi równe lub przekraczające 30 ng/ml), mimo poprawnie prowadzonej suplementacji (zgodnie z zaleceniem z 2013 roku [46]), a tylko 42 osoby (40%) miały stężenia 25OHD w granicach przekraczających 35 ng/ml.

Analiza zależności: masa ciała a uzyskane wzrosty stężenia 25OHD – rycina 4 – wskazuje,

Ryc. 3. Stężenie 25OHD w surowicy krwi pacjentów w trakcie substytucji – doustna podaż cholekalcyferolu w dobowej dawce 1000 j.m.

Fig. 3. Serum 25OHD concentration in patients during the cholecalciferol substitution – daily oral intake of cholecalciferol: 1000 IU

Ryc. 4. Zależność: wzrost surowiczego stężenia 25OHD a masa ciała osób przyjmujących cholekalcyferol w dawce 1000 j.m./db. doustnie

Fig. 4. Relationship: increment in 25OHD serum levels and weight of the patients taking orally 1000 IU of cholecalciferol/day

iż można tu myśleć o zależności liniowej (mniej przyrost u osób z większą masą ciała – co jest logiczne i zgodne z przewidywaniami), ale duży rozrzut wyników nie pozwala na formułowanie kategoriycznych wniosków i prognozowanie wzrostu jedynie na podstawie znajomości dawki (tutaj 1000 j.m./db) i masy ciała pacjenta.

Podobnie analiza zależności: uzyskane przyrosty stężenia 25OHD w surowicy krwi a powierzch-

Ryc. 5. Zależność: wzrost surowiczego stężenia 25OHD a powierzchnia ciała u osób przyjmujących cholekalcyferol w dawce 1000 j.m./db. doustnie

Fig. 5. Relationship: increment in 25OHD serum levels and body area surface of the patients taking orally 1000 IU of cholecalciferol/day

nia ciała pacjentów pozwala na wyciągnięcie wniosków ogólnych (o zależności odwrotnie proporcjonalnej: wzrost 25OHD – powierzchnia ciała u pacjentów z identyczną dawką dobową cholekalcyferolu) – rycina 5 – ale analiza wykresu wyklucza możliwość definiowania wzorów matematycznych dających możliwość predykcji poziomów 25OHD jedynie na podstawie znajomości dawki i powierzchni ciała pacjenta.

Omówienie

Wszelkie rekomendacje związane z działaniem profilaktycznym w populacjach zróżnicowanych pod względem wiekowym, zdrowotnym, kulturowym i finansowym to próba realizacji zadania niezwykle trudnego, opartego na wielu kompromisach, a więc z góry skazanego na krytykę i dyskusje o niedociągnięciach, skutkach ubocznych, etc., etc.

Jak każda profilaktyka, tak i profilaktyka niedoboru witaminy D to zadanie, w którym cel populacyjny bierze górę nad celem jednostkowym. Wszelkie próby związane z profilaktyką opierają się na poszukiwaniu kompromisu między następującymi aspektami praktycznymi • kosztami • skutecznością profilaktyki • działaniami niepożądanymi.

W przypadku profilaktyki populacyjnych niedoborów witaminy D skuteczność działań określona jest poprzez osiągnięcie poziomów optymalnych 25OHD w surowicy krwi osób objętych

profilaktyką. Działania niepożądane to ryzyko przedawkowania /nadwrażliwości i ich następstw.

Obowiązujące w Polsce zasady profilaktyki niedoboru witaminy D, opierające się na doustnej podaży cholekalcyferolu w dawce 600–1000 IU/dobę u zdrowych dzieci i nastolatków w wieku 1–18 lat [46], stwarzają małe zagrożenia przedawkowania (w rozumieniu przekroczenia dopuszczalnych osoczowych stężeń 25OHD), o ile profilaktycznej suplementacji nie prowadzi się łącznie z bezkrytycznym stosowaniem pokarmów i suplementów diety wzbogacanych w witaminę D₃.

Koszty profilaktyki po stronie Ministerstwa Zdrowia i Narodowego Funduszu Zdrowia – minimalne. Większość preparatów witaminy D to preparaty nierefundowane (100% odpłatności), profilaktyka prowadzona jest bez obowiązku kontroli poziomów 25OHD w populacji (poza stosunkowo nielicznymi przypadkami schorzeń przewlekłych stanowiących wskazanie do kontroli surowiczych stężeń 25OHD [46]) i nie należy do wykazu działań nadzorowanych i refundowanych przez NFZ [50].

W takim kontekście – tanio, powszechnie i niemal „po równo” dla wszystkich (wyjątek: dzieci i nastolatki z otyłością otrzymują większe dawki – pozostaje pytanie o skuteczność i bezpieczeństwo. Niniejsze opracowanie nawiązuje do tego zagadnienia. Czy profilaktyka jest rzeczywiście skierowana do dobrze zdefiniowanej grupy? Czy rzeczywiście jest to profilaktyka skuteczna?

W opracowaniu dokonano próby oceny skuteczności w odniesieniu do osób z hipowitaminozą, u których nie stwierdzono obecności czynników ryzyka głębszego niedoboru witaminy D, a więc wskazań do oznaczania surowiczych poziomów 25OHD [46]. Osoby takie, zgodnie z założeniami konsensusu [46], powinny być traktowane jako kandydaci do rutynowej suplementacji cholekalcyferolu w dawce 600–1000 j.m./dobę. Wyniki przeprowadzonych badań sugerują, iż skuteczność profilaktyki w takiej grupie jest stosunkowo niewielka, gdyż niemal 45% ma nadal (w trakcie suplementacji) poziomy 25OHD pozwalające na rozpoznanie hipowitaminozy, a jedynie 11% ma poziomy mieszczące się w zakresie, w którym należy liczyć na jakieś korzyści z genomowego działania metabolitów witaminy D (25OHD ≥ 50 ng/ml) (rycina 3).

Korzyści z działania genomowego stają się celem zwłaszcza w rodzinach obarczonych zwiększonym ryzykiem chorób nowotworowych i neurodegeneracyjnych. Tutaj optymalne stężenia 25OHD lokalizowane bywają w zakresie 40–60 ng/ml [51]

bądź definiowane jako przekraczające 50 ng/ml [52], 60 ng/ml [53–55] lub nawet 75 ng/ml [56] (profilaktyka nowotworów gruczołu piersiowego, jelita grubego, stercza, jajników, płuc i trzustki). Jak wynika z danych przedstawionych na rycinie 3, zaledwie 2% badanych osiągnęło w trakcie rutynowej profilaktyki stężenia 25OHD $\geq$ 60 ng/ml (rycina 3). Z drugiej strony stężenia 25OHD przekraczające 60 ng/ml, aczkolwiek traktowane jako mieszczące się w granicach optymalnych (30–80 ng/ml), zbliżają się do górnej granicy stężeń uznawanych za bezpieczne. Czy stwarzają ryzyko pojawienia się niekorzystnych następstw, które w kontekście gospodarki Ca-P definiowane są jako przedawkowanie/nadwrażliwość na witaminę D? Tradycyjnie za toksyczne uważa się poziomy 25OHD w surowicy krwi przekraczające 100, a nawet 150 ng/ml [57,58].

Niestety takie podejście do tematu jest następstwem pewnego uproszczenia. To nie 25OHD jest tym najbardziej aktywnym biologicznie metabolitem. A poziomy 1,25(OH)₂D (mniej wiemy na temat bezpiecznych stężeń innych aktywnych metabolitów, takich jak chociażby 1,24,24(OH)₃D oraz 1 α ,25-dihydroxy-3-epi-vitamin-D₃ (1 α ,25(OH)₂-3-epi-D₃)) nie zawsze są proporcjonalne do stężeń 25OHD. Opisywano przypadki, kiedy poziomy 25OHD przekraczające 75 ng/ml wiązano z pojawianiem się hiperkalcemii (udowodniono zależność przyczynowo-skutkową i takie poziomy traktowano jako toksyczne) [59]. Opisywano też przypadki, gdy zaburzenia gospodarki Ca-P mające związek z funkcją aktywnych metabolitów witaminy D pojawiały się przy stosunkowo niskich stężeniach 25OHD w surowicy krwi – np. niektóre postaci hiperkalciurii absorpcyjnej, gruźlica, sarkoidoza, niektóre chłoniaki [60].

Analizując gospodarkę Ca-P w szerszym kontekście, niepożądanym efektem przedawkowania/nadwrażliwości na witaminę D może być nie tylko hiperkalcemia na czczo, ale i hiperkalcemie poposiłkowe (temat wydaje się dużym wyzwaniem dla badaczy, bo póki co nie istnieją normy kalcemii poposiłkowych). Hiperkalcemie poposiłkowe są „nie-m laboratoryjnie” (rutynowe badania parametrów gospodarki Ca-P prowadzone na czczo nie odbiegają od normy). Rozpoznanie ich staje się możliwe zwykle dopiero po analizie dobowego wydalania wapnia, a stosunkowo często zlecane badanie porannych próbek moczu (np. wartość wskaźnika Ca/kreatynina) nie ma tu żadnej wartości diagnostycznej. Hiperkalcemie poposiłkowe stanowią jedną z możliwych przyczyn hiperkalciurii, a konkretnie hiperkalciurii absorpcyjnych. W wieku rozwojo-

wym to właśnie hiperkalciurie absorpcyjne i idiopatyczne (nerkowe) stanowią większość rozpoznawanych hiperkalciurii. Hiperkalciurie i ich następstwa (głównie kamica układu moczowego, rzadziej nefrokalcynoza prowadząca m.in. do śródmiąższowej choroby nerek) stają się problemem społecznym.

W ostatnich latach zarówno w populacji dziecięcej, jak i wśród dorosłych obserwuje się zwiększoną częstość nowych przypadków kamicy układu moczowego [61–66]. Problem dotyczy 5–10% populacji krajów rozwiniętych [67], a najczęstszą przyczyną metaboliczną prowadzącą do tworzenia złogów w drogach moczowych u dzieci jest właśnie hiperkalciuria (lub mówiąc dokładniej, któryś z 4 typów hiperkalciurii: absorpcyjna, resorpcyjna lub nerkowa czy idiopatyczna – podtyp nerkowy lub absorpcyjny). Hiperkalciurię stwierdza się u 30–50% pacjentów, u których doszło do wytworzenia złogów zawierających wapń [68].

Hiperkalciurie idiopatyczne stosunkowo często mają uwarunkowania genetyczne i występują rodzinnie [69]. Ich etiopatogeneza wymaga jeszcze wyjaśnienia. Uważa się, że u ich podłoża może leżeć defekt transportu zwrotnego wapnia w kanalikach nerkowych, co powoduje jego ucieczkę z moczem, z wyrównawczym zwiększeniem wchłaniania wapnia w jelicie i jego mobilizacją z kości. Uważa się, że przyczyną może być tu zmieniona (większa) wrażliwość [70]/gęstość [71,72] receptorów dla aktywnych metabolitów witaminy D lub większe stężenia 1,25(OH)₂D, co wynikać może (między innymi) z mutacji genów 24-hydroksylazy prowadzącej do niewydolności szlaków 25OHD $\rightarrow$ 24,24(OH)₂D lub 1,25(OH)₂D $\rightarrow$ 1,24,25(OH)₃D lub zwiększonej tkankowej (pozanerkowej) aktywności 1 α hydroksylazy [73]. U takich pacjentów wartość diagnostyczną/prognostyczną może mieć stężenie 1,25(OH)₂D w surowicy krwi, a nie poziomy 25OHD w surowicy krwi [74].

Wśród hiperkalciurii absorpcyjnych wyróżnia się podtyp I – stosunkowo rzadki, ale o największym nasileniu, niereagujący na ograniczenie spożycia wapnia; podtyp II – najczęstszy i zwykle dobrze reagujący na umiarkowane ograniczenie zawartości wapnia w diecie (w tej grupie rozważana jest między innymi rola sprawcza 1,25(OH)₂D lub receptorów [75]) oraz podtyp III – stosunkowo rzadki, będący wynikiem utraty fosforanów przez nerki (ang. *renal phosphate leak*). W następstwie pojawiającej się tendencji do hipofosfatemii zwiększa się 1 α hydroksylacja (rośnie poziom 1,25(OH)₂D) i w konsekwencji zwiększa się wchłanianie wapnia i fosforu w jelitach [76].

Hiperkalciuria nerkowa jest następstwem tubulopatii wrodzonych lub nabytych. Aczkolwiek pierwotna przyczyna hiperkalciurii nerkowych na ogół nie ma związku z witaminą D, tendencja do obniżonego stężenia wapnia w surowicy na skutek upośledzonej reabsorpcji w kanalikule nerkowym jest bodźcem do zwiększonej produkcji parathormonu i syntezy $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, a to z kolei prowadzi do zwiększonej absorpcji wapnia w przewodzie pokarmowym (pojawia się komponenta absorpcyjna). Zdaniem wielu badaczy hiperkalciurię absorpcyjną i nerkową należy traktować raczej jako jedno zaburzenie metaboliczne, o zróżnicowanym wprawdzie podłożu molekularnym (genetycznym) [77,78]. Zarówno w etiopatogenezie jednej, jak i drugiej coraz częściej zauważa się rolę witaminy D, jej metabolitów oraz receptorów dla witaminy D [70,72–75]. Tymczasem zarówno hiperkalciurie absorpcyjne, jak i nerkowe (w tym także idiopatyczne) pozostają zwykle poza zakresem zainteresowania endokrynologów (pacjenci zwykle diagnozowani są przez urologów i nefrologów, mimo że *de facto* często są poszkodowani przez zaburzenia metabolizmu/działania hormonów – aktywnych metabolitów witaminy D), podczas gdy to właśnie głównie endokrynolodzy są inicjatorami modyfikacji zasad suplementacji witaminy D [46]. Należy zauważyć, że wzrost liczby pacjentów z hiperkalciurią obserwowany jest na obszarach, na których prowadzi się w miarę skuteczną profilaktykę niedoboru witaminy D lub tylko profilaktykę krzywicy z niedoboru witaminy D [79].

Obecne zalecenia profilaktyki kamicy wapniowej obejmują: stosowanie diety niskosodowej, zwiększoną podaż płynów, zaprzestanie podawania preparatów wapniowych w przypadkach wskazujących na zwiększoną syntezę $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, przy prawidłowym poziomie 25OHD – również witaminy D_3 [80]. Tak zdefiniowana profilaktyka hiperkalciurii (i kamicy wapniowej) może pozostawać w sprzeczności z zaleceniami profilaktycznej suplementacji witaminy D. Niedodiagnozowanie osób zagrożonych kamcią wapniową (brak pełnej diagnostyki hiperkalciurii lub nierozpoznanie hiperkalciurii) i stosowanie „w ciemno” profilaktyki niedoboru witaminy D może być działaniem na niekorzyść dość dużej grupy osób, przyszłych potencjalnych pacjentów nefrologicznych i urologicznych. Pytanie – jak dużej grupy ta sprzeczność może dotyczyć? Na to pytanie nie ma dziś odpowiedzi.

Biorąc pod uwagę rangę problemu, jakim jest ryzyko kamicy wapniowej (10, a nawet 12% spo-

łeczeństwa) i fakt, iż wzrost takiego ryzyka może mieć niejednokrotnie związek także z podażą witaminy D i jej metabolitami, ocena parametrów metabolizmu witaminy D wydaje się więc zadaniem szczególnej wagi społecznej, zwłaszcza gdy decydujemy się na ingerencję w zaopatrzenie organizmu w prekursory hormonów, a efekty naszych rekomendacji mają dotyczyć całej (!) populacji (dziś profilaktyką niedoboru witaminy D, zgodnie z konsensusem [46], powinny być objęte wszystkie grupy wiekowe populacji) podczas gdy nie jesteśmy w stanie ocenić następstw takiej profilaktyki (tabela 2 – doustna dobową dawkę witaminy D 1000 j.m. powoduje wzrost surowiczego stężenia 25OHD o 0–5 ng/ml u 29% stosujących suplementację, o 5–20 ng/ml u 50% osób, ale u 2% badanych aż o 50–55 ng/ml).

Należy z całą mocą podkreślić, że rutynowa profilaktyka niedoboru witaminy D nie uwzględnia konieczności oznaczania poziomu metabolitów witaminy D, a jeżeli już – to co najwyżej surowiczego poziomu 25OHD, traktowanego jako jedyny wiarygodny wskaźnik pokrycia zapotrzebowania na witaminę D [39,40], ale nie jako bezwzględny wskaźnik bezpieczeństwa stosowania witaminy D (!). W założeniach profilaktyki nie ma też opcji kontroli dobowej kalciurii zarówno przed, jak i po wprowadzeniu profilaktyki. Wydaje się, że wprowadzenie kontroli efektów prowadzonej profilaktyki niedoboru witaminy D jest jednak celowe. Oznaczanie poziomu 25OHD jest niezbędnym minimum. Niewykluczone, iż z uwagi na skalę problemu, jakim jest rosnąca liczba osób z hiperkalciurią i kamcią wapniową, wskazane byłoby rozważenie kontroli kalciurii dobowej przed i w trakcie suplementacji (lub przynajmniej w jej trakcie).

Wnioski

Zastosowanie rekomendowanych dawek profilaktycznych witaminy D_3 nie daje pewności uzyskania pożądanych osoczowych poziomów 25OHD u wszystkich przedstawicieli populacji.

U 45% badanych, u których stwierdzono niedobór witaminy D, suplementacja opierająca się na podawaniu rekomendowanych dawek witaminy D_3 nie dała normalizacji osoczowych stężeń 25OHD.

Należy dążyć do indywidualizacji dawek suplementacyjnych i rozszerzenia listy osób, u których suplementacja powinna być poprzedzona przynajmniej oznaczeniem osoczowego stężenia 25OHD.

- Zemleni J., Rucker R.B., Suttie J.W. et al. [eds.]: Handbook of Vitamins, Fourth Edition. CRC PressTaylor & Francis Group 2007.
- Tsugawa N., Nakagawa K., Kawamoto Y. et al.: Biological activity profiles of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₂, D₃, D₄, D₇, and 24-epi-1 α ,25-dihydroxyvitamin D₂. *Biol. Pharm. Bull.*, 1999;22(4), 371-377.
- Erben R.G., Bante U., Birner H. et al.: Prophylactic effects of 1,24,25-trihydroxyvitamin D₃ on ovariectomy-induced cancellous bone loss in the rat. *Calcif. Tissue Int.*, 1997;60(5), 434-440.
- Molnár F., Sigüeiro R., Sato Y. et al.: 1 α ,25(OH)₂-3-Epi-Vitamin D₃, a Natural Physiological Metabolite of Vitamin D₃: Its Synthesis, Biological Activity and Crystal Structure with Its Receptor. *PLoS ONE*, 2011;6(3), e18124, 1-11.
- Holick M.F., Garabedian M., DeLuca H.F.: 5,6-Trans isomers of cholecalciferol and 25-hydroxycholecalciferol. Substitutes for 1,25-dihydroxycholecalciferol in anephric animals. *Biochemistry*. 1972;11(14), 2715-2719.
- Saito H., Takeda S., Amizuka N.: Eldecalcitol and calcitriol stimulates 'bone minimodeling,' focal bone formation without prior bone resorption, in rat trabecular bone. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.*, 2013;136, 178-182.
- Nishii Y.: Rationale for active vitamin D and analogs in the treatment of osteoporosis. *J Cell Biochem.*, 2003;88(2), 381-386.
- Kissmeyer A.M., Binderup L.: Calcipotriol (MC 903): pharmacokinetics in rats and biological activities of metabolites. A comparative study with 1,25(OH)₂D₃. *Biochem. Pharmacol.*, 1991;41(11), 1601-1606.
- Bouillon R., Sarandeses L.A., Allewaert K., Zhao J. et al.: Biologic activity of dihydroxylated 19-nor-(pre)vitamin D₃. *J. Bone. Miner. Res.*, 1993; 8(8), 1009-1015.
- Wever K.E., Masereeuw R., Miller D.S. et al.: Endothelin and calcitropic hormones share regulatory pathways in multidrug resistance protein 2-mediated transport. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2007;292, F38-F46.
- Charoenphandhu N., Wongdee K., Krishnamra N.: Is prolactin the cardinal calcitropic maternal hormone? *Trends. Endocrinol. Metab.* 2010;21(7), 395-401.
- Haussler M.R., Zerwekh J.E., Hesse R.H.: Biological Activity of 1 α -Hydroxycholecalciferol, A Synthetic Analog of the Hormonal Form of Vitamin D₃. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, 1973;70(8), 2248-2252.
- Ramagopalan S.V., Heger A., Berlanga A.J. et al.: A ChIP-seq-defined genome-wide map of vitamin D receptor binding: Associations with disease and evolution. *Genome Res.*, 2010;20(10), 1352-1360.
- Högberg G., Gustafsson S.A., Hällström T. et al.: Depressed adolescents in a case-series were low in vitamin D and depression was ameliorated by vitamin D supplementation. *Acta Paediatr.* 2012;L 101(7), 779-783.
- Meguid N.A., Hashish A.F., Anwar M. et al.: Reduced serum levels of 25-hydroxy and 1,25-dihydroxy vitamin D in Egyptian children with autism. *J. Altern. Complement. Med.*, 2010;16(6), 641-645.
- Olson M.L., Maalouf N.M., Oden J.D. et al.: Vitamin D deficiency in obese children and its relationship to glucose homeostasis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2012;97(1), 279-285.
- Sakthiswary R., Raymond A.A.: The clinical significance of vitamin D in systemic lupus erythematosus: a systematic review. *PLoS One.*, 2013;8(1), e55275.
- Shao T., Klein P., Grossbard M.L.: Vitamin D and breast cancer. *Oncologist*, 2012;17(1), 36-45.
- Yang B., Sun H., Wan Y. et al.: Associations between testosterone, bone mineral density, vitamin D and semen quality in fertile and infertile Chinese men. *Int. J. Androl.*, 2012;35, 783-792.
- Perez-Fernandez R., Alonso M., Segura C. et al.: Vitamin D receptor gene expression in human pituitary gland. *Life Sci.*, 1997;60, 35-42.
- Knight J.A., Wong J., Blackmore K.M. et al.: Vitamin D association with estradiol and progesterone in young women. *Cancer Causes Control*, 2010;21, 479-483.
- Lerchbaum E., Obermayer-Pietsch B.: Vitamin D and fertility: a systematic review. *Eur. J. Endocrinol.*, 2012;166(5), 765-778.
- Cannell J.J.: On the aetiology of autism. *Acta Paediatr.*, 2010;99(8), 1128-1130.
- Villamor E., Marin C., Mora-Plazas M. et al.: Vitamin D deficiency and age at menarche: a prospective study. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2011;94, 1020-1025.
- Kinuta K., Tanaka H., Moriwake T., Aya K. et al.: Vitamin D is an important factor in estrogen biosynthesis of both female and male gonads. *Endocrinology*, 2000;141, 1317-1324.
- Littlejohns T.J., Henley W.E., Lang I.A. et al.: Vitamin D and the risk of dementia and Alzheimer disease. *Neurology*, 2014;83(10), 920-928.
- Grineva E.N., Karonova T., Mischeeva E. et al.: Vitamin D deficiency is a risk factor for obesity and diabetes type 2 in women at late reproductive age. *Ag-ing (Albany NY)*, 2013;5(7), 575-581.
- Holick M.F.: Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J. Clin. Nutr.*, 2004;80(6 Suppl), 1678S-1688S.
- Godar D.E., Pope S.J., Grant W.B. et al.: Solar UV Doses of Young Americans and Vitamin D₃ Production. *Environ. Health Perspect.*, 2012;120(1), 139-143.
- Godar D.E., Pope S.J., Grant W.B. et al.: Solar UV doses of adult Americans and vitamin D(3) production. *Dermato-endocrinol.*, 2011;3(4), 243-250.
- Chan J.: Vitamin D Update for Nutrition Professionals. *Vegetarian Nutrition*, 2009;18(1-2), 10-14.
- Hymøller L., Jensen S.K.: Vitamin D(3) synthesis in the entire skin surface of dairy cows despite hair coverage. *J. Dairy Sci.* 2010;93(5), 2025-2029.
- Trenerry V.C., Plozza T., Caridi D. et al.: The determination of vitamin D₃ in bovine milk by liquid chromatography mass spectrometry. *Food Chem.*, 2011;125, 1314-1319.
- Takeuchi A., Okano T., Kobayashi T.: Determination of vitamin-D and its metabolites in breast and cow's milk. *J. Pharmacobiodyn.*, 1986;9, S71.
- Jakobsen J., Saxholt E.: Vitamin D metabolites in bovine milk and butter. *J. Food Compos. Anal.*, 2009;22, 472-478.
- Reeve L.E., Jorgensen N.A., DeLuca H.F.: Vitamin D compounds in cows' milk. *J Nutr.*, 1982;112(4), 667-672.
- Calvo M.S., Whiting S.J., Barton C.N.: Vitamin D fortification in the United States and Canada: current status and data needs. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2004;80(6), 1710S-1716S.
- Robin S.: Vitamin D Fortification of Milk. <http://healthyeating.sfgate.com/vitamin-d-fortification-milk-2625.html> [Available: 22.12.2024]
- Heaney R.P.: Serum 25-hydroxyvitamin D is a reliable indicator of vitamin D status. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2011;94(2), 619-620.
- Heaney R.P., Davies K.M., Chen T.C. et al.: Human serum 25-hydroxycholecalciferol response to extended

- oral dosing with cholecalciferol. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2003;77, 204-210.
41. Samodzielny Zespół Publicznych Zakładów Lecznictwa Otwartego Warszawa – Mokotów. Cennik badań laboratoryjnych. http://www.zozmokotow.pl/index.php?option=com_content&view=article&id=73:cennik-bada-laboratoryjnych&catid=59:cennik&Itemid=79 [Available: 22.12.2014]
 42. Centrum Luxmed. Badania i Zabiegi. Witamina D3. http://www.luxmedlublin.pl/dla_pacjenta/2,18,154,25lg,75237607lb,stromazb,badania-i-zabiegi,laboratorium,pelna-lista-badan,osteoporoza,witaminad3
 43. Shah I., James R., Barker J. et al.: Misleading measures in Vitamin D analysis: A novel LC-MS/MS assay to account for epimers and isobars. *Nutrition Journal*, 2011;10(46), 1-9.
 44. Strathmann F.G., Sadilkova K., Laha T.J. et al.: 3-epi-25 hydroxyvitamin D concentrations are not correlated with age in a cohort of infants and adults. *Clin. Chim. Acta.*, 2012;413(1-2), 203-206.
 45. Vieth R.: Why the optimal requirement for Vitamin D3 is probably much higher than what is officially recommended for adults. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2004;89-90(1-5), 575-579.
 46. Pludowski P., Karczmarewicz E., Bayer M. et al.: Wytyczne suplementacji witaminą D dla Europy Środkowej – rekomendowane dawki witaminy D dla populacji zdrowej oraz dla grup ryzyka deficytu witaminy D. *Endokrynologia Polska*, 2013;4(64), 319-327.
 47. Tang J.C.Y.: The search for 3-Epi-25-hydroxy vitamin D. *Endocrine Abstracts*, 2013;31, P36.
 48. Karczmarewicz E., Kryśkiewicz E., Skorupa E. et al.: Porównanie automatycznych metod oznaczania 25(OH) D – doświadczenia laboratorium szpitala pediatrycznego uczestniczącego w międzynarodowym systemie kontroli jakości DEQAS. *Postępy Nauk Medycznych*, 2012;3, 194-200.
 49. Zerwekh J.E.: Blood biomarkers of vitamin D status. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2008;87(suppl), 1087S-1091S.
 50. Narodowy Fundusz Zdrowia. Profilaktyczne programy zdrowotne 2014. NFZ 2014. http://www.nfz.gov.pl/new/tagi.php?slovo=*profilaktyczne%20programy%20zdrowotne* [Available 22 grudnia 2014].
 51. Garland C.F., Gorham E.D., Mohr S.B. et al.: Vitamin D for Cancer Prevention: Global Perspective. *Annals of Epidemiology*, 2009;19(7), 468-483.
 52. Garland C.F., Gorham E.D., Mohr S.B. et al.: Vitamin D and prevention of breast cancer: pooled analysis. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2007;103(3-5), 708-711.
 53. Munger K.L., Ascherio A.: Prevention and treatment of MS: studying the effects of vitamin D. *Mult Scler.*, 2011;17(12), 1405-1411.
 54. Garland C.F., French C.B., Baggerly L.L. et al.: Vitamin D supplement doses and serum 25-hydroxyvitamin D in the range associated with cancer prevention. *Anticancer Res.*, 2011;31(2), 607-611.
 55. Trump D.L., Deeb K.K., Johnson C.S.: Vitamin D: considerations in the continued development as an agent for cancer prevention and therapy. *Cancer J.*, 2010;16(1), 1-9.6.
 56. Ingraham B.A., Bragdon B., Nohe A.: Molecular basis of the potential of vitamin D to prevent cancer. *Curr. Med. Res Opin.*, 2008;24(1), 139-149.
 57. Ozkan B., Hatun S., Beret A.: Vitamin D intoxication. *Türk. J. Pediatr.*, 2012;54(2), 93-98.
 58. Khan Q.J., Fabian C.J.: How I Treat Vitamin D Deficiency. *JOP*, 2010;6(2), 97-101.
 59. Vanstone M.B., Oberfield S.E., Shader L. et al.: Hypercalcemia in Children Receiving Pharmacologic Doses of Vitamin D. *Pediatrics*, 2012;129(4), e1060-e1063.
 60. Fuss M., Pepersack T., Gillet C. et al.: Calcium and vitamin D metabolism in granulomatous diseases. *Clin. Rheumatol.*, 1992;11(1), 28-36.
 61. Acar B., İnci A.B., Arkan F. et al.: Risk factors for nephrolithiasis in children. *World. J. Urol.*, 2008;26, 627-630.
 62. Van Dervoort K., Wiesen J., Frank R. et al.: Urolithiasis in pediatric patients: a single center study of incidence, clinical presentation and outcome. *J. Urol.*, 2007;177(6), 2300-2305.
 63. Stamatelou K.K., Francis M.E., Jones C.A. et al.: Time trends in reported prevalence of kidney stones in the United States: 1976-1994. *Kidney Int.*, 2003;63, 1817-1823.
 64. Lopez M., Hoppe B.: History, epidemiology and regional diversities of urolithiasis. *Pediatr Nephrol.*, 2010;25, 49-59.
 65. Odajima K., Mashimo S., Omata T. et al.: Statistical analysis of urolithiasis. *Hinyokika Kiyo*, 1987;33(3), 353-356.
 66. Rizvi S.A., Sultan S., Zafar M.N. et al.: Evaluation of children with urolithiasis. *Indian J Urol. JAPA*, 2007;23(4), 420-427.
 67. Bartoletti R., Cai T., Mondaini N. et al.: Epidemiology and risk factors in urolithiasis. *Urol. Int.*, 2007;79 Suppl (1), 3-7.
 68. Tabel Y., Mir S.: The long-term outcomes of idiopathic hypercalciuria in children. *J. Pediatr. Urol.*, 2006;2, 453-458.
 69. Frick K.K., Bushinsky D.A.: Molecular Mechanisms of Primary Hypercalciuria. *J Am Soc Nephrol.*, 2003;14, 1082-1095.
 70. Bushinsky D.A., Monk R.D.: Calcium. *Lancet*, 1998;352, 306-311.
 71. Bai S., Wang H., Shen J. et al.: Elevated vitamin D receptor levels in genetic hypercalciuric stone-forming rats are associated with downregulation of Snail. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2010;25(4), 830-840.
 72. Frick K.K., Asplin J.R., Krieger N.S. et al.: 1,25(OH)₂D₃-enhanced hypercalciuria in genetic hypercalciuric stone-forming rats fed a low-calcium diet. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.*, 2013;305(8), F1132-F1138.
 73. Cadranel J., Garabedian M., Milleron B. et al.: 1,25(OH)₂D₂ production by T lymphocytes and alveolar macrophages recovered by lavage from normocalcemic patients with tuberculosis. *J. Clin. Invest.*, 1990;85(5), 1588-1593.
 74. Stapleton F.B., Langman C.B., Bittle J. et al.: Increased serum concentrations of 1,25(OH)₂ vitamin D in children with fasting hypercalciuria. *J. Pediatr.*, 1987;110(2), 234-237.
 75. Nesterova G., Malicdan M.C., Yasuda K. et al.: 1,25-(OH)₂D₂-4 Hydroxylase (CYP24A1) Deficiency as a Cause of Nephrolithiasis. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.*, 2013;8(4), 649-657.
 76. Cioppi F., Taddei L., Brandi M.L.: Idiopathic hypercalciuria and calcium renal stone disease: our cases. *Clin. Cases. Miner. Bone. Metab.*, 2009;6(3), 251-253.
 77. Coe F.L., Favus M.J., Crockett T. et al.: Effects of low calcium diet on urine calcium excretion, parathyroid function and serum 1,25(OH)₂D₃ levels in patients with idiopathic hypercalciuria and in normal subjects. *Am. J. Med.*, 1982;72, 25.
 78. Wróblewski T., Wystrychowska A.: Hiperkalciuria. *Przegląd Lekarski*, 2011;68(2), 107-113.
 79. Fallahzadeh M.H., Zare J., Al-Hashemi G.H. et al.: Elevated Serum Levels of Vitamin D in Infants With Urolithiasis. *IJKD*, 2012;6, 186-191.
 80. Kamińska A., Bieroza I.: Hiperkalciuria – najczęstsze zaburzenie metaboliczne u dzieci z kamicą nerkową. *Nowa Pediatria*, 2011;2, 49-52.