



**ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE**

---

**Fakulta biomedicínského inženýrství  
Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva**

**Vliv vitamínu D na průběh gravidity a kostní metabolismus u žen  
ve fertilním věku**

**The influence of vitamin D on the progress of the pregnancy and bone  
metabolism in women of childbearing age**

Bakalářská práce

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví  
Studijní obor: Zdravotní laborant

Vedoucí práce: Mgr. Romana Široká, Ph.D.

**Jana Sedlářová**

---

**Kladno 2017**

## Z a d á n í   b a k a l á ř s k é   p r á c e

Student: **Jana Sedlářová**  
Obor: Zdravotní laborant  
Téma: **Vliv vitamínu D na průběh gravidity a kostní metabolismus u žen ve fertilním věku**  
Téma anglicky: The influence of vitamin D on the progress of the pregnancy and bone metabolism in women of childbearing age

### Zásady pro vypracování:

Bakalářská práce se bude zabývat vlivem vitamínu D na metabolismus žen ve fertilním věku a možností ovlivnění výšky hladiny v séru před a po suplementaci. V teoretické části práce bude popsán metabolismus vitamínu D včetně struktury a názvosloví. Také jeho zdroje, funkce a účinky na organismus. První část práce se zaměří na vliv vitamínu D na těhotenství, jeho doporučenou denní dávku, možnosti dodávání vit. D a důsledky jeho nedostatku. Druhá část práce (praktická) se zaměří na možnosti stanovení koncentrace vitamínu D v séru a na vliv hladiny vitamínu D v séru jako markeru potenciální gravidity u skupiny žen s poruchou fertility.

### Seznam odborné literatury:

- [1] RACEK, Jaroslav, Klinická biochemie, ed. 2. přepr., Praha: Galén, c2006, 329 s., ISBN 80-7262-324-9  
[2] BALKOVÁ, Olga, Labor Aktuell [online], Praha, 2015 [cit. 2016-06-15]. .  
<http://www.roche-diagnostics.cz/home/casopis/LaborAktuell0315.html>  
[3] HOSSEIN-NEZHA, Arash and HOLICK, Michael F. , Vitamin D for health: a global perspective. Mayo Clin Proc. [online]. . ed. 2013. 88 (7) [cit. 2016-06-18]. . [Revidováno :  
<http://www.ahfmc.fr/wp-content/uploads/2015/03/vitamine-d-mayo-clin-proc-2013-v88-n7-p720-55.pdf>]

Zadání platné do: 11.09.2018  
Vedoucí: Mgr. Romana Šířoká, Ph.D.  
Konzultant: MUDr. Michal Frajer

  
vedoucí katedry / pracoviště

  
děkan

V Kladné dne 31.10.2016

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci s názvem Vliv vitamínu D na průběh gravidity a kostní metabolismus u žen ve fertilním věku vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů, které uvádím v seznamu bibliografických odkazů.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu § 60 zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů.

V Kladně dne 17. 5. 2017

.....  
Jana Sedlářová

## **Poděkování**

Děkuji vedoucí bakalářské práce Mgr. Romaně Široké Ph.D. za cenné rady, trpělivost a ochotu vést moji bakalářskou práci. Děkuji také odborným konzultantům Ing. Anabele Čížkové, PharmDr. Monice Belešové a Ing. Václavovi Petrákovi Ph.D. za účinnou metodickou a odbornou pomoc při zpracování této bakalářské práce.

## **Abstrakt**

Bakalářská práce se zabývá vlivem vitamínu D na průběh gravidity a kostní metabolismus u žen ve fertilním věku. Teoretická část je zaměřena na vitamín D, jeho formy, metabolismus a deficiency. Je popisován ideální marker (25 - OHD) hladiny vitamínu D v krvi, který odpovídá jeho zásobní formě v lidském organismu, a jsou shrnuty informace o rozmezí tohoto ukazatele v krvi. Pozornost je věnována také aktivní formě vitamínu D (kalcitriolu) jeho funkci a metabolismu i faktorům, které ovlivňují jeho působení a kostnímu metabolismu v souvislosti s tímto vitamínem. Práce se dále zabývá vlivem vitamínu D na fertilitu a vznik možných komplikací v průběhu těhotenství zejména v důsledku jeho nedostatečné hladiny v organismu matky. A také je uvedena možnost suplementace v případě nedostatku vitamínu D v organismu.

V praktické části jsou shrnuty možnosti stanovení hladiny 25 - OHD v krvi, s podrobnějším zaměřením na metodu Abbott ARCHITECT. V souboru naměřených hladin 25 - OHD v soukromé laboratoři Synlab czech s.r.o. od roku 2013 do roku 2016 u žen ve fertilním věku je porovnávána se statistickými údaji plodnosti. Ve sledovaném období byla u 74,88 % žen ve fertilním věku zjištěna hladina 25 - OHD pod fyziologickou hodnotou a sledován rostoucí trend počtu naměřených hladin 25 - OHD s přibývajícím věkem a také v posledních třech letech.

## **Klíčová slova**

Vitamín D; 25 - hydroxyvitamín D; kalcitriol; těhotenství; suplementace.

## **Abstract**

This bachelor thesis deals with the influence of vitamin D on the course of pregnancy and bone metabolism in women of fertile age. The theoretical part is focused on vitamin D - its forms, metabolism and deficiencies. It describes the ideal marker (25 - OHD) of vitamin D level in the blood, this marker corresponds with the storage form of vitamin D in the human organism. The text summarizes informations about the range of this indicator in the blood. Attention is also paid to the active form of vitamin D (calcitriol) - its function and metabolism, as well as to the factors influencing its action, and the bone metabolism associated with vitamin D. The thesis also deals with the effect of vitamin D on fertility and the development of possible complications during pregnancy, mainly due to its insufficient level in the mother's organism. The possibility of supplementation in case of vitamin D deficiency is discussed as well.

The practical part summarizes the possibilities of determination of blood 25 - OHD level. The greatest attention is paid to method Abbott Architect. The values of 25 - OHD are measured in private laboratory - Synlab czech s.r.o. The measured levels of 25 - OHD collected from women in fertile age in the period between years 2013 - 2016 are compared with the statistical data of fertility. In the monitored period, 74,88 % of women of fertile age were found to have a 25 - OHD level lower than the physiological value. The growing trend of the number of measurements of 25 - OHD levels with increasing age and over the last three years was monitored as well.

## **Keywords**

Vitamin D; 25 - hydroxyvitamin D; calcitriol; pregnancy; supplementation.

## Obsah

1	Úvod.....	7
2	Současný stav.....	8
2.1	Vitamín D .....	8
2.1.1	Zdroje vitamínu D.....	9
2.1.2	Metabolismus vitamínu D.....	10
2.1.3	Kalcitriol .....	11
2.1.4	Ukazatel hladiny vitamínu D .....	14
2.1.5	Hladina vitamínu D v krvi.....	15
2.1.6	Deficity vitamínu D.....	15
2.2	Kostní metabolismus .....	16
2.2.1	Kalcitriol .....	17
2.2.2	Parathormon .....	17
2.2.3	Kalcitonin.....	18
2.2.4	Provázanost Ca, P, Mg a jiných prvků .....	18
2.3	Fertilita .....	19
2.3.1	Vliv vitamínu D na těhotenství .....	19
2.3.2	Neplodnost a vitamín D .....	21
2.4	Suplementace vitamínem D.....	23
2.4.1	Vigantol .....	23
3	Cíl práce.....	25
4	Metodika .....	26
4.1	Stanovení vitamínu D.....	26
4.1.1	Metoda ARCHITECT 25 - OH vitamín D .....	27
4.2	MATLAB.....	30
4.2.1	Popis kódu vytvořeného v MATLABu .....	31
5	Výsledky.....	33
6	Diskuze .....	40

7	Závěr .....	46
8	Seznam použitých zkratk .....	47
9	Seznam použité literatury .....	49
10	Seznam použitých obrázků .....	53
11	Seznam použitých tabulek .....	54
12	Seznam příloh .....	55
12.1	Kód MATLAB .....	55



# 1 ÚVOD

V současné době je vitamínu D věnována velká pozornost díky stále se objevujícím novým poznatkům o jeho vlastnostech na lidský organismus. Z důvodu zvyšujícího se věku prvorodiček a přibývajících komplikacemi otěhotnění se tato bakalářská práce zabývá vlivem vitamínu D na ženský organismus ve fertilním věku. Fertilní věk je obdobím, kdy může dojít k otěhotnění a následně k narození nového života. Z důvodu vysokých nároků kladených na tělo ženy a vyvíjející se plod v průběhu těhotenství je třeba zajistit dostatečný příjem živin a také vitamínu D.

Podmínkou pro vznik aktivní formy vitamínu D, která je schopna plnit nezbytné funkce v organismu, je překonání několika faktorů, které omezují jeho vznik a dále zdravá, funkční játra a ledviny. Po sérii biochemických reakcí probíhajících v těchto orgánech vzniká aktivní forma kalcitriol (1, 25 - dihydroxykalciol). Jednou z jeho klíčových funkcí je vstřebávání vápníku a mineralizace kostí, tato úloha ale není zdaleka jediná. Další významný vliv má například na kardiovaskulární choroby, rakovinu, duševní choroby, diabetes, autismus, autoimunitní onemocnění a v neposlední řadě na již zmiňované těhotenství. Stanovení hladiny kalcidiolu (25 - OHD) v krvi umožňuje zjistit hladinu vitamínu D v organismu. Proto je cílem v souboru naměřených hodnot 25 - OHD v krvi u žen ve fertilním věku zjistit trend hladiny 25 - OHD v závislosti na věku žen a počtu naměřených hladin 25 - OHD. A za dané časové období porovnat hladinu 25 - OHD se statistickými údaji plodnosti.

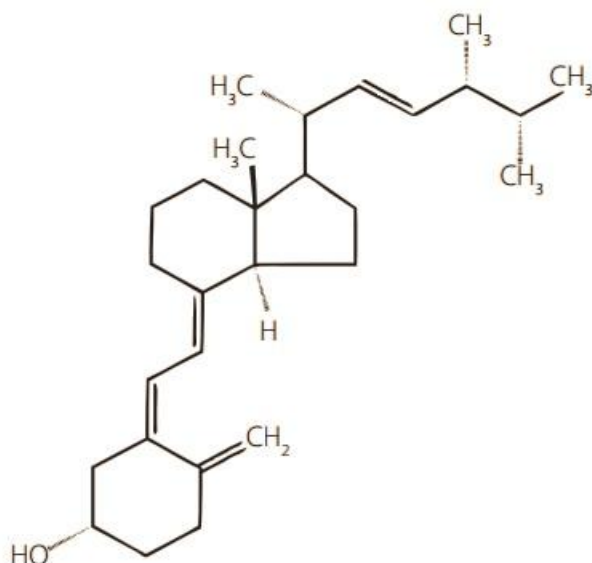
## 2 SOUČASNÝ STAV

Mezi základní součásti lidské výživy jsou řazeny především bílkoviny, cukry, tuky, minerální látky, voda a vitamíny. I přes to, že jsou vitamíny jmenovány mezi posledními složkami potravy, nevypovídá to o jejich podřadnosti, ale právě naopak. Vitamíny byly zpočátku označovány jako doplňkové nebo výživové faktory a pojem vitamín vůbec nebyl znám. Postupem času ale vitamínům bylo přiřazováno velké množství funkcí a byly označeny jako látky pro metabolismus v nízkých koncentracích nepostradatelné. Hlavním důvodem nepostradatelnosti je jejich neschopnost syntézy v organismu. Jsou označovány jako esenciální a organismus je přijímá pouze z potravy. To však neplatí pro niacin, který může být tvořen z tryptofanu a také vitamín D, který je tvořen především z cholesterolu. Dalším důvodem nepostradatelnosti všech vitamínů je jejich důležité postavení v metabolických procesech, kde působí jako antioxidanty. Znamená to tedy, že vychytávají volné radikály, tvoří koenzymy mnoha enzymů a podílí se na metabolismu specializovaných tkání a na obraných pochodech [1], [2].

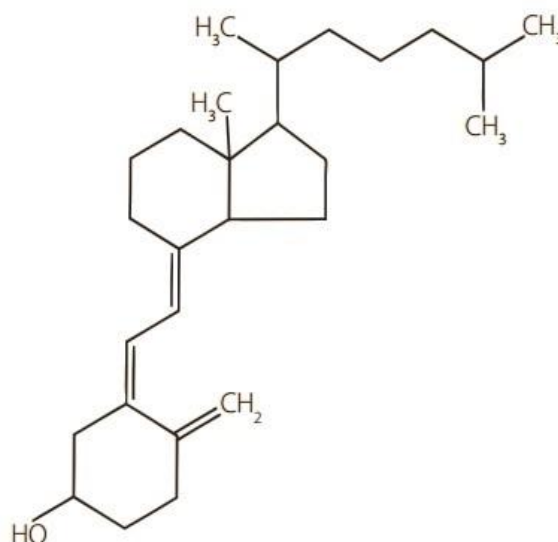
Jelikož chemická struktura vitamínů je velmi rozmanitá, tak se k rozdělení využívá kritérium rozpustnosti, díky kterému se vitamíny rozdělí na dvě skupiny. Do skupiny vitamínů rozpustných ve vodě je řazena celá skupina vitamínů B a vitamín C. Jejich vlastnost umožňuje nadbytečné množství těchto vitamínů vyloučit močí a díky tomu u těchto vitamínů nehrozí hypervitaminóza. U vitamínů A, D, E a K patřících do skupiny vitamínů rozpustných v tucích může nastat nadbytek, pokud dojde k jejich hromadění v tukové tkáni [1], [2].

### 2.1 Vitamín D

Původ tohoto vitamínu je v cholesterolu a podle chemické struktury se řadí mezi sekosteroidy. Vitamín D je hydrofobní neboli lipofilní látka vznikající po působení UV záření na steroidní skelet. Na obrázku níže (Obrázek 1 a Obrázek 2) je znázorněn již samotný výsledek, ke kterému dojde díky postupnému rozevření kruhu B mezi C9 a C10. Z ergosterolu vzniká vitamín D<sub>2</sub>, tedy ergokalciferol a ze 7 - dehydrocholesterolu vzniká vitamín D<sub>3</sub>, tedy cholekalciferol [1], [2], [3].



Obrázek 1: Ergokalciferol [4] - upraveno



Obrázek 2: Cholekalciferol [4] - upraveno

Ergokalciferol je rostlinného původu a označuje se také jako erkalciol, jelikož je tvořen z ergosterolu. Do organismu se přijímá potravou [4].

Druhou již živočišnou formou vitamínu D je cholekalciferol a označuje se také jako kalciol, vitamín D<sub>3</sub>. Jelikož endogenní forma vitamínu D<sub>3</sub> je tvořena z prekursoru cholesterolu, přesněji ze 7 - dehydrocholesterolu působením UV paprsků na kůži, tak má největší význam. Obava z intoxikace vitamínem D vlivem nadměrného působení slunečního záření je však zbytečná, jelikož dochází k přeměně provitamínu D<sub>3</sub> na neaktivní lumisterol a tachysterol. U starých lidí se přeměna na kalciol ze 7 - dehydrocholesterolu i samotná tvorba vitamínu značně snižuje [1], [3], [5].

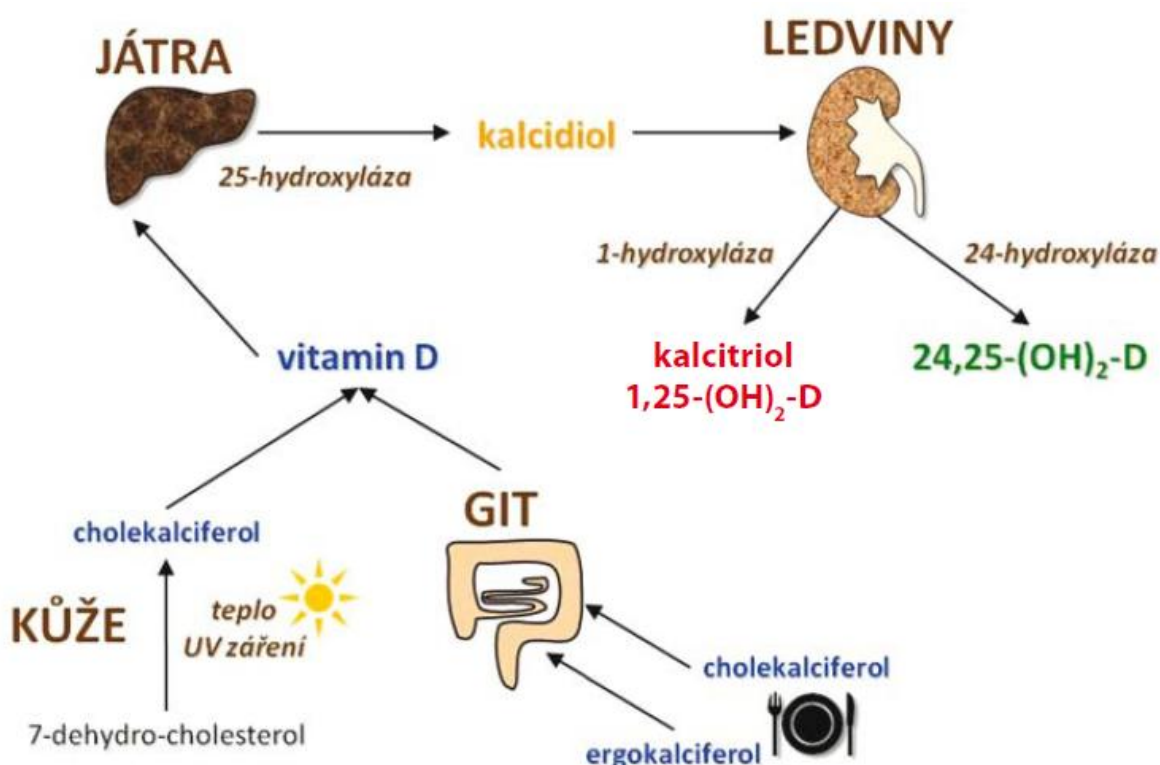
Formy vitamínu D<sub>2</sub> a D<sub>3</sub> jsou nejdůležitější, ale existují ještě další tři formy tohoto vitamínu, i když pro potřeby organismu nejsou již tolik významné. Mezi tyto formy je řazen vitamín D<sub>1</sub>, což je směs ergokalciferolu a lumisterolu, dále vitamín D<sub>4</sub> 22 - dihydroergokalciferol a vitamín D<sub>5</sub> - sitokalciferol [4].

### 2.1.1 Zdroje vitamínu D

Vitamín D<sub>3</sub> se v potravinách příliš nevyskytuje. V lidském organismu se asi 90 % celkového množství tohoto vitamínu tvoří v kůži vlivem UV záření. Jen vitamín D<sub>2</sub> je rostlinného původu. Nejvíce je obsažen v mořských rybách nebo oleji z tresčích jater a dále pak v mléce i vaječném žloutku. Jeho využitelnost v organismu je však mnohem nižší než u cholekalciferolu [2], [4], [5].

## 2.1.2 Metabolismus vitamínu D

Ergokalciferol a cholekalciferol nejsou v nativní formě dostatečně účinné. Obě látky jsou v organismu metabolizovány obdobně. Malý rozdíl je jen ve funkcích jejich metabolitů. Pokud dojde k intoxikaci vitamínem D<sub>2</sub>, projevy jsou mírnější. Důvodem by pravděpodobně byla vyšší afinita této formy k vazebnému proteinu. Při intoxikaci mimo jiné hraje svoji roli stav ledvin a cesta aplikace. Metabolismus vitamínu D je zajištěn v několika krocích a znázorněn na následujícím obrázku (Obrázek 3). Výsledkem procesu je aktivní forma vitamínu, kterou označujeme jako hormon [3], [4], [16].



Obrázek 3: Schéma metabolismu vitamínu D [9]

První krok metabolismu vitamínu D se odehrává v játrech, kde dochází k hydroxylaci. Nejprve probíhá hydroxylace na 25. uhlíku a vzniká 25 - hydroxyvitamín D, tedy kalcidiol. K tomuto ději dochází díky přítomnosti cytochromu P450 na vnitřním povrchu mitochondriální membrány. Ať už zvýšeným příjmem nebo zvýšenou tvorbou vitamínu D se vždy zvýší cirkulace 25 - OHD. Stanovení koncentrace 25 - OHD v krvi se využívá k posouzení rezervy vitamínu D v organismu [5], [16].

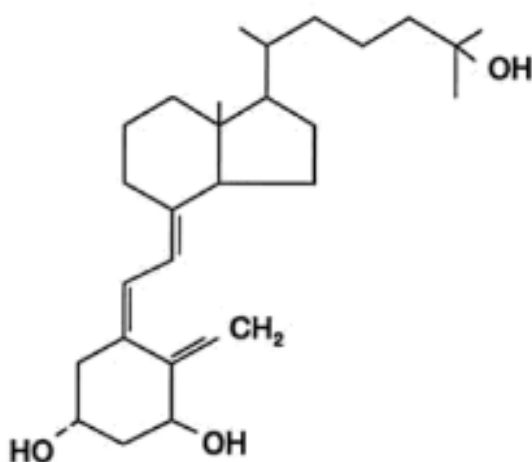
V krevním oběhu vitamín D putuje ve vazbě na bílkovinný nosič, kterým je vitamín D vázající protein (DBP). Díky této vazbě je transportován až do ledvin. Zde díky přítomné

1 $\alpha$ -hydroxylázy dojde k druhé hydroxylaci. Výsledkem této reakce je 1, 25 - dihydroxyvitamín D, tedy kalcitriol. Ten je popsán podrobněji v další části této práce. Aktivita 1 $\alpha$  - hydroxylázy byla prokázána nejen v buňkách ledvin, ale také v buňkách mléčné žlázy, tlustého střeva, prostaty, placenty, v aktivovaných makrofázích, keratinocytech a osteoblastech. Aktivitu 1 $\alpha$  - hydroxylázy ovlivňuje řada dějů a stavů, mezi které patří hypokalcemie, hypofosfatemie a zvýšené vylučování PTH [5].

25 - hydroxyvitamín D a zvláště pak 1, 25 – dihydroxyvitamín D nemusí být konečnými produkty metabolismu. Pokud metabolismus bude pokračovat, pak může po hydroxylaci za katalýzy 24 - hydroxylázy vznikat 24, 25 - dihydroxyvitamín D společně s dalším prvkem nazývaným 1, 24, 25 - trihydroxyvitamín. Kromě toho po několika hydroxylacích bočního řetězce kalcitriolu dojde k odštěpení neaktivních produktů. V současnosti je známo asi padesát různých metabolitů vitamínu D, ale dosud nebyla zjištěna jejich přesná funkce a využití v organismu [5].

### 2.1.3 Kalcitriol

Kalcitriol (viz Obrázek 4) je formou vitamínu D zodpovídající za jeho biologické funkce a to i přes to, že v krvi cirkuluje v nižších koncentracích než kalcidiol. Vysvětlením může být, že má lepší schopnost vázat se na receptory pro vitamín D. Transport v krvi umožňuje zejména DBP - vitamín D vázající protein, méně často pak albumin a lipoproteiny. DBP se tvoří v buňkách jater a má krátký biologický poločas (2,5 - 3 dny), to má za příčinu jeho vysokou denní produkci. Mezi hlavní funkce DBP patří omezování dostupnosti a prodlužování biologického poločasu vitamínu D a jeho metabolitů [3].



Obrázek 4: Kalcitriol [29]

Kalcitriol se díky své steroidní povaze může vázat na vitamín D jaderný receptor (VDR) v cytoplazmě buněk tkání. Tento receptor byl prokázán v mnoha tkáních, mezi které například patří mozek, prostata, tlusté střevo, plíce, myokard a dnes i spermie. VDR je fosfoprotein, který je složen ze 424 AMK. Počet VDR se zvyšuje nejen působením kalcitriolu, ale také v období růstu, těhotenství a laktace. S přibývajícím věkem jeho počet naopak klesá. U genu, který kóduje VDR, bylo popsáno několik specifických mutací. Častým výsledkem těchto mutací je rezistence vůči kalcitriolu, což má za následek rozvoj vitamín D rezistentní křivice. Nebo také polymorfismus VDR genu, který ovlivňuje dosažení maximálního množství kostní hmoty [5], [16].

- **Faktory ovlivňující kalcitriol**

Vznik kalcitriolu je ovlivněn několika faktory. Mezi nejdůležitější se řadí ultrafialové světlo. Rozlišují se celkem tři spektra vlnových délek. Pouze světlo UVB o vlnové délce 280 - 320 nm po kontaktu s kůží pronikne jen pokožkou. Dojde pak ke stimulaci kůže a může se tvořit vitamín D. Obsah potřebného UVB světla ve slunečním světle nebude dostatečný, pokud světlo nedopadá dostatečně kolmo nebo pokud bude světlo nadměrně filtrováno atmosférou. Severní polokoule Země se během léta naklání více ke Slunci, naopak v zimě se od Slunce odklání. Tím je dáno, že v létě na severní polokouli je přijímáno více slunečního světla. Na jižní polokouli je to naopak [7].

Mezi další vlivy, které nejsou ovlivněny roční dobou, patří nadmořská výška, neboť hustší atmosféra v nulové nadmořské výšce odfiltruje více UVB než ve vysokých nadmořských výškách. Dalším vlivem je odraz světla od povrchu, kdy světlá barva odrazí více slunečního světla. Oblačnost, ozonová díra, znečištění vzduchu i opalovací krémy snižují možnost působení UVB světla k tvorbě vitamínu D [7].

Svoji roli zajisté hraje také pigment melanin v kůži. Ten totiž soutěží se 7 - dehydrocholesterolem o fotony UV. Obecně lze říci, že melanin produkci vitamínu D<sub>3</sub> snižuje, a proto lidé s tmavou pletí potřebují k vytvoření potřebného množství vitamínu delší působení slunečních paprsků. Také věk ovlivňuje možnost tvorby vitamínu D, a to proto, že s přibývajícím věkem se snižuje koncentrace 7 - dehydrocholesterolu v kůži [5].

- **Funkce kalcitriolu**

Hlavní funkcí kalcitriolu je udržení normální hladiny Ca. Toho je dosaženo absorpcí Ca z potravy ve střevní sliznici a podporou diferenciací osteoklastů z kmenových buněk. Osteoklasty pak mohou uvolňovat Ca do krve z kostní hmoty [5], [10].

Další funkce, které kalcitriol v organismu vykonává, lze rozdělit podle místa působení v organismu. Ve sliznici střev zvyšuje absorpci Ca a fosfátů z lumen do enterocytu, zároveň zajišťuje prostup bazální membránou do oběhu krve. Tím se zajistí potřebná hladina Ca a P v séru, což je podmínkou pro růst kostí a normální mineralizaci kostní hmoty. Z hlediska kosti reguluje proliferaci a apoptózu kostních buněk i chondrocytů. Dále také udržuje kalcium fosfátový komplex [5].

Kalcitriol je spjat s funkcí parathormonu (PTH), a to tak, že reguluje vstřebání vápníku a současně kontroluje jeho hladinu v séru. Pokud se sníží hladina vitamínu D, dojde ke zvýšení hladiny PTH a tím vznikne nedostatek Ca v kostech. To vede k řídnutí kostí, které je podmíněno také rychlejším rozkladem osteoklasty dřív, než by ji stačily osteoblasty znovu vybudovat. Nepostradatelným vlivem, který by zamezoval řídnutí kostí, je sluneční světlo [7].

Kalcitriol dnes také hraje důležitou roli v mnoha dalších oblastech. Řadí se do látek, které mají protirakovinné účinky. Díky tomu, že několik buněk obsahuje VDR, mohou být tyto buňky aktivovány vitamínem D. Po této aktivaci se obrací na geny, jejichž úkolem je regulace buněčných procesů a tím i některých protirakovinných mechanismů. Ve spojitosti s těmito mechanismy vitamín D podporuje apoptózu, diferenciaci, zpomaluje bujení a šíření rakovinných buněk do zdravých tkání, zpomaluje tvorbu metastáz a také angiogenezi, zejména zamezuje růstu cév, které by zásobovaly rakovinné tkáně [7], [10], [11].

Další oblastí využitelnosti účinků kalcitriolu jsou ledviny. Konkrétně v ledvinách kalcitriol inhibuje systém renin - angiotenzinogen, mění strukturu podocytů a redukuje proteinúrii. U pacientů s chronickým onemocněním ledvin je navíc popisována souvislost mezi nízkou koncentrací vitamínu D a vznikem cévních kalcifikací nebo inzulinové rezistence [12].

Nedostatečná hladina vitamínu D se považuje za rizikový faktor pro rozvoj diabetu 1. typu. Některé studie naznačují, že narušená homeostáza vitamínu D ovlivňuje i rozvoj diabetu 2. typu. Mezi mechanismy, které mohou způsobit narušenou homeostázu, se řadí změna hladiny Ca v plazmě, dysfunkce  $\beta$  - buněk Langerhansových ostrůvků s následkem zhoršené sekrece inzulínu, snížená inzulínová senzitivita periferních tkání a chronický zánět [12].

Podle některých studií se předpokládá, že vitamín D zasahuje také do metabolismu svalů a ovlivňuje jejich funkce. Svaly mají velký vliv v patogenezi pádů a pád s následnou zlomeninou je problémem zejména u starších jedinců [12].

Funkce tohoto vitamínu jsou opravdu rozmanité a informací o jeho vlivech stále přibývá. Vyšší koncentrace vitamínu D se také spojí s lepší regulací centrálního nervového systému. Vitamín D ovlivňuje neuroprotektivní, antiepileptické, imunomodulační děje a umožňuje souhru mezi hormony a neurotransmitery. V neposlední řadě hraje vitamín D svoji roli v oblasti imunity, tedy v prevenci infekčních onemocnění nebo patogenezi autoimunitních chorob. Konkrétně ovlivňuje činnost imunitních buněk a napomáhá regulaci exprese řady prozánětlivých cytosinů [5], [12].

#### **2.1.4 Ukazatel hladiny vitamínu D**

Ačkoli vysoce aktivní, snadno dostupnou a účinnou látkou je vitamín 1,25 - dihydroxykalciool, tedy kalcitriol, ideálním ukazatelem hladiny vitamínu D v organismu je sérová hladina kalcidiolu (25 - OH vitamín D). Vysvětlením může být jeho důležitá funkce, jelikož je zásobní formou vitamínu D a nachází se v krvi až v 1 000krát vyšších koncentracích než aktivní kalcitriol. Bylo také zjištěno, že kalcitriol klesá až ve chvíli, kdy deficit v organismu je už velmi výrazný. Další důležitá informace se týká biologického poločasu. U kalcidiolu je to asi 15 dní, kdežto kalcitriol má poločas v cirkulaci asi 6 hodin. I tyto informace nasvědčují tomu, že kalcidiol je ideálním ukazatelem vitamínu D. Sérová hladina kalcidiolu odpovídá vitamínu D přijatého z potravy a zároveň také expozici kůže slunečnímu záření nebo vitamínu D vyplaveného z tukových zásob jater [6], [7], [8], [12], [27].



### 2.1.5 Hladina vitamínu D v krvi

Následující tabulka (Tabulka 1) přehledně informuje o hladinách 25 - OH vitamínu D v obvykle používaných jednotkách ng/ml a také nmol/l, kdy 1 ng/ml je roven 2,5 nmol/l. Za ideální se považuje udržení hladiny v plazmě mezi 30 - 50 ng/ml. Deficitní stav je považován při koncentraci 25 - OHD pod 20 ng/ml. O snížené zásobě v organismu se hovoří při koncentraci 21 - 29 ng/ml. Důvodem je neschopnost vzestupu PTH v této hladině. Za toxickou hladinu se považuje koncentrace vyšší než 80 ng/ml. O stavu intoxikace však vypovídá hladina nad 150 ng/ml. Cílová hodnota 25 - OHD v krvi je nad 30 ng/ml a denní potřeba vitamínu D se pohybuje kolem 0,01 mg. Doporučuje se denně přijímat asi 20 µg, tedy 800 IU vitamínu D [2], [5], [7], [8], [12].

Tabulka 1: Rozmezí hladin 25 - OHD

Stav	Hladina 25 - OHD v jednotkách ng/ml	Hladina 25 - OHD v jednotkách nmol/l
Fyziologická hladina	30 - 50	75 – 125
Deficitní stav	< 20	< 50
Snížená zásoba	21 - 29	50 – 75
Toxická hladina	> 80	> 200
Intoxikace	> 150	> 375

### 2.1.6 Deficity vitamínu D

Pokud dojde k nedodržení fyziologické hladiny z různých příčin např. při poruše syntézy, nebo při regulačních pochodech, může dojít k deficitu nebo k nadbytku vitamínu D.

- **Nedostatek vitamínu D**

Mezi hlavní příčiny nedostatku vitamínu D, které snižují syntézu v kůži, patří především příliš krátká expozice slunci, tmavý typ kůže, roční období s nedostatkem slunce, život v oblastech s nedostatkem slunečního svitu, používání ochranných slunečních prostředků, oděvy bránící přístupu slunečního záření na kůži a také vyšší věk nebo znečištěné ovzduší [14].

Snížená hladina vitamínu D může být také v důsledku patologických stavů. Například při celiakii, chronickém zánětu střev, nefrotickém syndromu a při léčbě glukokortikoidy [5].

Nedostatečná koncentrace vitamínu D nevede jen k rozvoji sekundární hyperparathyreóze, k rozvoji křivice nebo osteomalacie, ale má několik dalších negativních vlivů, které jsou popisovány v dalších kapitolách [5].

#### • **Nadbytek vitamínu D**

Vystavení organismu vysokým dávkám vitamínu D po několik týdnů, nebo předávkování vitamínem D jsou stavy, které vedou k intoxikaci. Projevy jsou ale vždy závislé na dávce a délce vystavení tohoto vitamínu. Může vzniknout perzistující hyperkalcémie. U tohoto stavu vznikají akutní, nebo chronické následky. Mezi akutní následky se řadí zvracení, srdeční arytmie, nauzea, zácpa, sucho v ústech, bolesti hlavy, bolesti břicha, dehydratace a poruchy vědomí. Mezi chronické následky se řadí polyurie, polydipsie, která vede až k nechuti k jídlu, dále ztráta hmotnosti, tvorba ledvinných kamenů, nebo nefrokalcinóza. Jen zcela ve výjimečných případech může dojít k fatálnímu selhání funkce ledvin nebo kardiovaskulárního systému [5], [24].

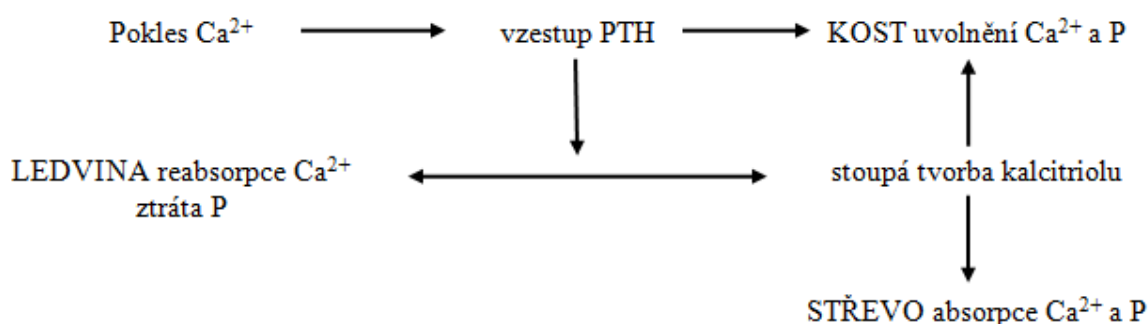
## **2.2 Kostní metabolismus**

V další části této práce je přiblížen jeden typ pojivové tkáně, a to konkrétně kost. Kosti totiž nezabezpečují jen celkovou oporu těla, ale současně ukládají vápník a fosfát a také v kostní dřeni umožňují tvorbu krvetvorných buněk i zrání B-buněk [15].

K důležitým prvkům kostního metabolismu patří vápník a po chemické stránce velmi podobný hořčík. Vápník spolu s fosforem tvoří základ hydroxyapatitu, tedy základní složku kostní tkáně. Plazmatický vápník má několik forem. První nedifuzibilní forma se váže na albumin, a proto jako jediná nemůže pronikat semipermeabilními membránami. Druhou formu představuje jen velmi malé množství vápníku. Vyskytuje se v komplexních sloučeninách, které jsou nerozpustné ve vodě. Třetí formu představuje ionizovaný vápník  $\text{Ca}^{2+}$ , který zahrnuje necelou polovinu vápníku. Současně je to jediná aktivní forma vápníku, která v organismu vykonává důležité funkce. Mezi tyto funkce patří snižování nervosvalové dráždivosti, snižování propustnosti membrán a kapilárních stěn. Jeho přítomnost je nepostradatelná při hemokoagulaci, při svalové kontrakci, dále v kostní

matrix a laktaci.  $\text{Ca}^{2+}$  organismus přijímá zejména z potravin, hlavně z mléka, mléčných výrobků a sýrů. Zvýšená potřeba  $\text{Ca}^{2+}$  je především u těhotných a kojících žen, ale i u rostoucích dětí [1].

Pro správnou funkci vápníku je zapotřebí třech důležitých látek. Patří mezi ně vitamín D - kalcitriol, parathormon a kalcitonin. Následující obrázek (Obrázek 5) zjednodušeně ukazuje hormonální regulaci při snížení vápníku v potravě. Dochází ke zvyšování hladiny PTH, kalcitriolu a stoupá absorpční frakce Ca ve střevě a uvolnění  $\text{Ca}^{2+}$  z kostí. [15], [16].



Obrázek 5: Schéma hormonální regulace hladiny vápníku [16]

Obecně lze říci, že tyto hormony ovlivňují pohyb vápníku mezi extracelulární tekutinou, ledvinami a kostmi, ale konkrétně jsou popsány v následujících podkapitolách [16].

### 2.2.1 Kalcitriol

Metabolismus, faktory ovlivňující funkci i samotná funkce kalcitriolu jsou popsány v předchozích kapitolách.

### 2.2.2 Parathormon

Po chemické stránce polypeptid složený z 84 AMK. Tvořen je buňkami příštítných tělísek nacházejících se na zadní straně laloků štítné žlázy. PTH podporuje syntézu kalcitriolu v ledvinách, umožňuje uvolňování Ca z kostí, zpětnou resorpci v ledvinách a napomáhá tvorbě cytokinů. Ty pak ovlivňují zrání osteoklastů z nezralých buněk a v osteoblastech podporují uvolnění  $\text{Ca}^{2+}$ . Cílem těchto pochodů je zvýšit koncentraci Ca v séru [5], [15], [16].

### 2.2.3 Kalcitonin

Kalcitonin (CT) je peptid tvořen z 32 AMK. Vzniká odštěpováním z vysokomolekulárního prekurzoru, ze kterého vznikají ještě další peptidy. K sekreci CT dojde zvýšením hladiny Ca, Mg, gastrinu, glukagonu v séru. CT je produktem zejména C buněk štítné žlázy. K hlavním účinkům patří inhibice resorpce kostí, snížení hladiny Ca a P. Obecně lze říci, že působí jako antagonist k PTH a kalcitriolu [15], [16].

### 2.2.4 Provázanost Ca, P, Mg a jiných prvků

Mimo  $\text{Ca}^{2+}$  patří mezi další důležité prvky anorganické složky kosti  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ , aniont  $\text{HPO}_4^{2-}$ , další prvky jako Zn, Cu, Mn, Mo i stopové prvky. Organickou složku představuje kolagen typu I a proteiny zejména proteoglykany, osteokalcin a sialoprotein [2].

Protože vápník má v organismu mnoho biologických funkcí je nezbytná jeho homeostáza. Ta se udržuje nejen již popisovaným hormonálním systémem, ale i dostatečným příjmem magnézia a fosfátu [16].

Důležitost magnézia je dána již tím, že je obsažen asi z 60 % v kosti a umožňuje tvorbu krystalů hydroxyapatitu. Ovlivňuje také produkci parathormonu a vitamínu D. A to tak, že pokud dojde ke snížení magnesemie, dojde ke zvýšené tvorbě PTH a také naopak, při zvýšení magnesemie dojde k poklesu PTH. Spolu se zinkem a mědí jsou kofaktory enzymů, které regulují metabolismus kalcia [16], [17].

Fosfát je z 80 % uložen v kostech ve formě hydroxyapatitu, nebo se nachází v plazmě ve formě fosfátového aniontu, a to hlavně  $\text{HPO}_4^{2-}$ . Regulace metabolismu fosfátů je jako u  $\text{Ca}^{2+}$  hormonální. Další významné anorganické prvky mají obecně kalcifikační efekt, konkrétně pomáhají řídit syntézu kostní matrix, aktivují tvorbu osteoblastů nebo tvoří ochranu pro skelet [2], [17].

Dosud jsou popisovány jen vlivy, které působí pozitivně a pomáhají fyziologickým funkcím v organismu. Je ale třeba upozornit na to, že při vysokých koncentracích některých stopových prvků mohou být vlivy opačné, až toxické. A to zejména při vysoké koncentraci zinku, fluoru, železa. Zcela toxické je kadmium, chrom a kobalt [17].

## 2.3 Fertilita

Fertilita je obdobím pohlavní zralosti, tedy nejdelším obdobím života ženy, kdy může dojít k oplodnění, těhotenství a narození životaschopného dítěte. Tomuto období předchází puberta - vrchol dospívání, infantilní - dětské období a neonatální - novorozenecké období. Po tomto období pohlavní zralosti následuje klimakterium, které nastává kolem 45. roku ženy. Po tomto období následuje klidové stádium pohlavních orgánů - senium [18].

Období pohlavní zralosti nastává po pubertě, tedy mezi 18. až 45. rokem. V tomto období probíhají pravidelné menstruační cykly. Průměrně jeden cyklus trvá 28 dní a k ovulaci dochází okolo 14. dne. Gonádotropiny, vyplavované z hypotalamu, řídí sekreci pohlavních hormonů tvořených v nadledvinách a vaječnicích. Žena je připravena na těhotenství, a to nejen po tělesné stránce změnou stavby těla a správnou funkcí reprodukčních orgánů. Žena je také psychicky zralá a připravená na narození potomka [18].

Těhotenství je období života ženy, kdy se naplní biologický smysl její podstaty. Dochází k zázraku početí a daru života. V tomto období dochází k mnoha změnám, které mají zajistit vývoj a narození nového člověka na svět. Těhotenství trvá průměrně 10 lunárních měsíců po 28 dnech, což je 280 dní. Je to tedy doba, která začíná oplozením a pokračuje třemi fázemi těhotenství [19], [20].

### 2.3.1 Vliv vitamínu D na těhotenství

Těhotenství klade na ženu velké požadavky. Aby organismus ženy fungoval správně a byly tak zajištěny co nejlepší podmínky pro plod, měla by žena zvýšeně dbát o správnou životosprávu. Zcela nevhodné je kouření, pití alkoholu, kofein, diety. Je zapotřebí snížit příjem tuků, naopak je potřeba zvýšit dostatečný příjem tekutin, zejména proto, že se zvyšuje objem tělních tekutin. Vhodné jsou potraviny bohaté na vlákninu a dostatečný příjem vitamínů, minerálů, zejména vápníku, železa, jódu a dalších. Jak již bylo zmíněno, pro správnou funkci nejen vápníku je zapotřebí dostatečná hladina vitamínu D [20], [28].

Zejména nedostatečná hladina vitamínu D v těhotenství má nepříznivý vliv jak na ženu, tak i na vyvíjející se plod, a ovlivňuje také budoucí zdraví dítěte. Důvodem je úplná závislost plodu, během nitroděložního vývoje, na příjmu vitamínu D od matky.

Při nedostatku tohoto vitamínu u těhotné ženy se zvyšuje riziko špatného vývoje kostí plodu, vzniku těhotenské cukrovky, preeklampsie a vývoje malého plodu. Nedostatek způsobuje současně i různá akutní a chronická onemocnění. Jednotlivé vlivy vitamínu D na těhotenství jsou popsány v další části práce [14].

- **Vliv na kostní metabolismus**

Těhotenství je velkou zátěží na metabolismus kostí ženy. Dostatečný příjem vápníku je však nezbytný také pro vývoj a růst kostí plodu. Z toho důvodu je zapotřebí udržet vápníkovou homeostázu těhotných žen. K tomu je zapotřebí dostatečný přísun vitamínu D a je důležité dosáhnout dostatečné koncentrace vitamínu D už během těhotenství. Postnatální suplementace dítěte vitamínem D totiž zcela nenahradí jeho nedostatek před narozením. Pokud by došlo k porušení vápníkové homeostázy lze předpokládat narození dítěte s nízkou porodní hmotností a tím dochází ke zvýšení rizika chronického onemocnění v dospělosti [14], [21].

- **Vliv na vznik GDM**

Gestační diabetes mellitus (GDM) je závažný stav v těhotenství, který je nebezpečný svými důsledky jak pro matku, tak i pro dítě. Nedostatečná hladina 25 - OHD v séru je spojena se zvýšeným rizikem GDM, jelikož vitamín D zvyšuje inzulinovou senzitivitu. A to tak, že zlepšuje inzulinem zprostředkovaný transport glukózy. V následující tabulce (Tabulka 2) jsou popsány komplikace, které komplikují stav plodu, a to i po jeho narození u matky trpící onemocněním DM. Komplikace se rozdělují na prenatální a postnatální. Kdy prenatální komplikace jsou rozdělovány podle délky těhotenství a postnatální komplikace na časně a pozdní [14], [22].

Tabulka 2: Prenatální a postnatální komplikace pro plod při DM matky [22]

<b>Prenatální komplikace</b>	<b>1. trimestr</b>	spontánní potrat
		vznik vrozené vývojové vady
	<b>2. trimestr</b>	porucha psychomotorického vývoje plodu
	<b>3. trimestr</b>	diabetická fetopatie
		porucha psychomotorického vývoje
		intrauterinní růstová retardace
předčasný porod		
	úmrtí plodu v děloze	
<b>Postnatální komplikace</b>	<b>časné komplikace</b>	projevy diabetické fetopatie
		porucha psychomotorického vývoje
	<b>pozdní komplikace</b>	porucha glukózové tolerance
		obezita v dětství, diabetes
		opoždění psychomotorického vývoje
		metabolický syndrom

- **Vliv na vznik preeklampsie**

Preeklampsie je stav, kterým mohou trpět těhotné ženy. Projevuje se nejprve hypertenzí a proteinurií. Může však dojít k vyústění eklampsie, při které dochází ke křečím, komatu a až smrti. Je prokázána souvislost se sérovou hladinou 25 - OHD v takovém smyslu, že pokud je nedostatečná koncentrace 25 - OHD v těhotenství, je zvýšené riziko vývoje preeklampsie. Samotný mechanismus působení vitamínu D, který by mohl ovlivnit nástup preeklampsie, ale není zcela jasný. Poukazuje se na to, že pokud by ženy během těhotenství dostávaly vitamín D, tak by měly nižší riziko vzniku této poruchy [7], [14], [23].

- **Vliv na riziko narození malých plodů**

Nízká hmotnost narozeného dítěte je spojována s několika možnými riziky. Děti, které mají po porodu hmotnost nižší než 2 500 g, mají vyšší riziko vzniku astmatu, diabetu, zvýšeného krevního tlaku, cévních mozkových příhod, srdečního infarktu nebo jiného onemocnění srdce. Poukazuje se na možnost rizika porodu malého plodu právě u žen s nízkou sérovou hladinou 25 - OHD [14].

### 2.3.2 Neplodnost a vitamín D

Neplodné páry jsou děleny na dvě skupiny. Charakteristickou příčinou první skupiny je neplodnost, tedy sterilita. Problémem je nemožnost otěhotnění, kdy příčina bývá

ve stejné míře jak v muži, tak i ženě. Mezi důvody neplodnosti muže se řadí neschopnost pohlavního styku. Tyto poruchy bývají často způsobeny poškozením míchy, celkovým onemocněním nebo psychickými poruchami. Další příčinou je neschopnost oplození nejčastěji způsobenou poruchou tvorby spermií. Mezi důvody neplodnosti ženy patří anatomické změny, dále změny pohlavních orgánů, způsobené záněty, agenezí, operací, které představují překážku setkání mužské a ženské pohlavní buňky. Důvodem neplodnosti může také být porucha funkce pohlavních orgánů, psychické příčiny, nebo imunologické problémy. Ve druhé skupině neplodných párů je hlavním problémem infertilita, což je stav, kdy žena není schopna donosit a porodit životaschopný plod. Za takto neúspěšné těhotenství lze označit až třetí po sobě následující těhotenství [18].

Je tak zřejmé, že k otěhotnění je zapotřebí zdravý a funkční mužský a ženský organismus. A mnoho dalších faktorů, které umožní narození nového potomka. U ženy navíc je zapotřebí zohlednit věk. S přibývajícím věkem totiž plodnost ženy klesá z důvodu úbytku vajíček ve vaječnicích a zhoršení jejich genetické výbavy a dále z důvodu zvyšujícího se výskytu celkových onemocnění [18].

Mezi další faktory, umožňující otěhotnění a narození plodu, lze zařadit i vitamín D. Jedním z důvodů je klinická studie prokazující souvislost mezi nízkou hladinou vitamínu D a poruchami fertility. Mohlo by se pravděpodobně jednat o následek zánětlivého nebo imunologického procesu, stupňujícího se při snížené hladině vitamínu D. Nižší koncentrace vitamínu D byly zjištěny také u žen podstupujících IVF. Studie také poukazuje na to, že nízké hladiny tohoto vitamínu jsou zřejmě příčinou malé úspěšnosti IVF, nebo nižší kvality embryí. Účinnou součástí léčby neplodnosti je tak suplementace vitamínem D [23].

Dalším vlivem vitamínu D na neplodnost je jeho schopnost působit na reprodukční tkáň, a to jak mužů, tak i žen. U mužů napomáhá správné funkci varlat tím, že podporuje syntézu androgenů, spermatogenezi a maturaci spermií, z toho vyplývá i vliv na proces oplodnění. U žen podporuje funkci vaječnicků a placenty. Podporuje také syntézu pohlavních hormonů. Hraje důležitou roli v průběhu těhotenství, ale také v procesu oplodnění, protože se podílí na vyzrání a uvolňování vajíček připravených k oplození [23].



## 2.4 Suplementace vitamínem D

Suplementací vitamínem D v průběhu těhotenství se zajistí zvýšená koncentrace v krvi matky a tím dojde k lepší dostupnosti tohoto vitamínu i pro plod. Doplnění vitamínu D se doporučuje především u žen s rizikem nedostatku tohoto vitamínu [6], [8], [14].

Možnosti, které umožňují suplementaci vitamínem D, se dělí na dvě hlavní skupiny. Do první skupiny na recept předepisovaných léků se řadí kapky Vigantol. Tyto kapky obsahují pouze vitamín D, proto jsou popisovány samostatně v následující kapitole. Další léky, které se používají jako prevence osteoporózy, jsou už v kombinaci s vápníkem i jinými minerály. Patří mezi ně například Caltrate Plus, Caltrate nebo žvýkácí forma Calcichew. Druhou, velice bohatou skupinou, jsou doplňky stravy s vitamínem D a jeho kombinace s jinými vitamíny a minerály. Firmy vyrábějí různé formy těchto doplňků pro děti, dospělé ale i těhotné ženy tak, aby měly dostatek vitamínů pro správný vývoj plodu a dobrý průběh těhotenství.

Ať už se jedná o suplementaci u těhotných žen nebo i jiné skupiny lidí, je dobré před jejím zahájením stanovit výchozí hladinu vitamínu D, přesněji její zásobní formu. A to proto, aby byla možná monitorace a současně bylo možné zhodnotit, zda došlo k dosažení cílové hodnoty a určit tak úspěch. Obecně se upřednostňuje suplementace vitamínem D<sub>3</sub>. Důvodem je menší účinek vitamínu D<sub>2</sub> a jeho krátká doba přetrvávání v krvi [6], [8], [14].

### 2.4.1 Vigantol

Základní možností doplnění vitamínu D jsou perorální kapky Vigantol, kdy v jedné kapce je obsaženo 500 IU vitamínu D<sub>3</sub>. Z předešlých informací je zřejmé, že během těhotenství je zapotřebí dostatečný příjem vitamínu D. Dosud žádná informace z literárních zdrojů neinformuje o akutní nebo chronické toxicitě vitamínem D v průběhu těhotenství. Nebyly ani pozorovány případy, kdy by došlo k předávkování u kojených dětí, které přijímají vitamín D právě z mateřského mléka. Mohlo by však dojít například k hyperkalcémii v průběhu těhotenství z předávkování vitamínem D, která by mohla být spojena se zvýšenou vnímavostí na účinky vitamínu D, potlačením funkce příštítných tělísek, mentální retardací a aortální stenózou u dítěte. Naopak pokud by došlo k výrazné

hypovitaminóze vitamínem D nebo osteomalacii mohla by vznikat fetální nebo neonatální rachitida, hypokalcémie nebo hypoplazie skloviny [24].

Po perorálním podání těchto kapek se vitamín D<sub>3</sub> zcela resorbuje. Pokud se přijímají vyšší dávky, dojde k resorpci ze dvou třetin a nadbytek se vylučuje do stolice. Dlouhý biologický poločas je dán vlastností ukládat se do tukové tkáně. V séru může být hladina 25 - hydroxyvitamínu D zvýšena několik měsíců po vysokých dávkách vitamínu D [24].

Kapky Vigantol se podávají jako prevence vzniku křivice u zdravých novorozenců a dětí do 1 roku v množství 1 kapky, u předčasně narozených dětí se doporučuje podávat 2 kapky denně. Ve druhém roce se doporučuje podávat Vigantol zejména v zimních měsících. Dále se používají k prevenci nedostatku vitamínu D u dětí a dospělých s malabsorpcí, s identifikovaným rizikem a dále při léčbě křivice a osteomalacie, hypoparatyreózy a pseudohypoparatyreózy a jako podpora léčby osteoporózy [24].

### **3 CÍL PRÁCE**

Cílem bakalářské práce je zaměřit se na hodnotu 25 - OH vitamín D jako marker potenciální gravidity. V souboru naměřených hodnot 25 - OHD v krvi u žen ve fertilním věku zjistit trend hladiny 25 - OHD v závislosti na věku žen a počtu naměřených hladin 25 - OHD za určité období. Dále za dané časové období porovnat hladinu 25 - OHD se statistickými údaji plodnosti.

## 4 METODIKA

Pro stanovení hladiny 25 - OHD v krvi je možné použít několik metod. Informace o těchto metodách shrnuje následující kapitola. Naměřené hodnoty 25 - OHD v experimentální části bakalářské práce, byly měřeny v soukromé laboratoři Synlab czech s.r.o. se sídlem v Jankovčově ulici v Praze. Měření probíhalo pomocí systému Abbott ARCHITECT 25 - OH vitamín D, kterému je věnována větší pozornost. Následně je také popsán program MATLAB, pomocí kterého se vytvořil tzv. boxplot (krabicový graf).

### 4.1 Stanovení vitamínu D

Historie stanovení vitamínu D sahá pouze do 70. let minulého století, kdy byl poprvé 25 - OH vitamín D stanoven. Postupně byly objevovány metody založené na chromatografických postupech. Nejdříve to byla radioimunoanalytická metoda (RIA), postupně byly vyvíjeny metody s enzymovou nebo chemiluminiscenční detekční koncovkou. Největší posun ve stanovení vitamínu D se stal pravděpodobně v roce 2009. Nejenže, jak uveřejnila americká asociace, se zvýšil zájem o tento vitamín, ale současně firmy na zvýšenou poptávku po vyšetření zareagovaly produkcí diagnostických kitů. Všechny vytvořené metody patří mezi imunoanalytické postupy, které se i v rutinních laboratořích běžně stanovují na imunochemických analyzátořech. Mezi dostupné systémy měření se řadí DiaSorin/Liaison, DiaSorin/RIA, Siemens/Centaur, Roche/Modular, Elecsys, Abbott/Architect, i-Sys/IDS. Mezi referenční metody patří dvě metody, které pracují na principu izotopové diluce - kapalinové chromatografii - tandemové hmotnostní spektrometrii (ID-LC-MS/MS). Tento princip je dosud jediný pro specifické stanovení vitamínu D a jeho metabolitů [25], [26].

Na problém spojený s nedostatečnou srovnatelností výsledků rutinních metod, ale také na problém systematické difference mezi těmito metodami poukazuje několik zahraničních studií. Mezi hlavní příčiny a faktory ovlivňující imunochemické stanovení, se řadí vazba na DBP. Tuto vazbu vitamínu D na DBP je třeba v průběhu měření uvolnit. Toho se docílí nastavením hodnoty reakční směsi na určitou hodnotu pH. Koncentrace DBP silně ovlivňuje výsledky měření a je různá u jednotlivých skupin pacientů. Hlavní příčina difference je způsobena různou účinností uvolnění vitamínu D z vazby na DBP. Mezi další ovlivňující faktory se řadí rozdílná imunoreaktivita pro 25(OH)D<sub>2</sub> a 25(OH)D<sub>3</sub>, pozitivní

bias způsobovaný různou koncentrací 3 - epi - 25 - hydroxyvitamínu D<sub>3</sub> a i jiné vyskytující se látky, jako například heterofylní protilátky [25].

Z výsledků externího hodnocení kvality je zřejmé, že požadavky na mezilaboratorní preciznost (reprodukovatelnost) a bias (% difference od referenční hodnoty) jsou prozatím nesplněné, neboť je požadována  $CV \% \leq 10$  a  $bias \% \leq 5$ . Možnost zlepšení závisí na zlepšení kvality imunochemických metod, nebo na větším rozšíření metod LC-MS/MS, ale zejména na vývoji standardizace. Standardizace měření však není dosud hotová ani funkční a způsobuje tak výraznou variabilitu mezi laboratořemi. Nejdůležitějším pilířem standardizace je návaznost kalibrátorů rutinních měření na referenční materiál NIST SRM 972. Ačkoli výrobci prohlašují, že referenční materiál ke stanovení hodnot kalibrátorů používají, i přes to není srovnatelnost různých metod dostačující. Výrazná systematická difference mezi metodami tak komplikuje hodnocení klinického stavu saturací vitamínem D [25], [39].

Všichni výrobci měřících systémů deklarují jako předmět pro měření celkový (total) 25 - hydroxyvitamín D. Stanovení celkového 25 - hydroxyvitamínu D je snadné a dostupné stanovení pomocí imunoanalytických metod ve všech laboratořích, které jsou vybaveny běžnými analyzátory. Se získaným výsledkem je však třeba pracovat s opatrností, je důležité znát všechna úskalí tohoto měření a interpretovat výsledek s ohledem na celkový stav pacienta [25].

#### **4.1.1 Metoda ARCHITECT 25 - OH vitamín D**

Tento systém pracuje na principu chemiluminiscenční imunoanalýzy na mikročasticích a stanovuje kvantitativně 25 - OH vitamín D v lidském séru i plazmě. Před samotným stanovením je nejdříve zapotřebí odebrat biologické vzorky, připravit vzorky na analýzu a podle potřeby je skladovat. Současně s principem stanovení jsou všechny tyto kroky, které vedou ke stanovení koncentrace 25 - OHD v krvi popisovány v podkapitole níže [27].

##### **• Odběr vzorku na analýzu**

- Na vzorky jsou kladeny požadavky, které musí být dodrženy, aby mohlo dojít k měření touto metodou.

- Vzorky tepelně inaktivované, zjevně mikrobiálně kontaminované, směsné, nebo silně hemolytické, se řadí mezi nepoužitelné.
- Tabulka 3 popisuje odběrové zkumavky, které se používají a byly pro tuto metodu ověřeny ve vztahu k jednotlivým typům vzorků [27].

*Tabulka 3: Typy vzorků a odběrových zkumavek [27]*

Typy vzorků	Odběrové zkumavky
<b>Sérum</b>	Separální zkumavka na sérum
<b>Plazma</b>	Didraselná sůl EDTA
<b>Plazma</b>	Tridraselná sůl EDTA
<b>Plazma</b>	Sodná sůl heparinu
<b>Plazma</b>	Lithná sůl heparinu

- Aby byla zajištěna správnost výsledků, tak by vzorky séra a plazmy neměly obsahovat erytrocyty, fibrin ani jiné pevné částice.
- Je ale možné, že vzorky sér pacientů, kteří jsou léčeni antikoagulanty nebo trombolitiky mohou obsahovat fibrin z důvodu neúplné koagulace [27].

#### • Příprava vzorku na analýzu

- Při práci s odběrovými zkumavkami se dodržují pokyny dané výrobcem.
- Samotná sedimentace není dostačující pro separaci vzorků.
- Rozmražené vzorky je nutné dostatečně promíchat převrácením nebo pomocí vortexu.
- Je potřeba dodržet méně než čtyřnásobné zmrazování/rozmrazování.
- U zmrazených vzorků, nebo vzorků obsahující fibrin, erytrocyty a jiné pevné částice se musí zajistit stabilita výsledků před provedením testu odstředěním minimálně při 30 000 g - minutách.
- Tabulka 4 popisuje příklady doby jednotlivých možností centrifugace v hodnotách relativní centrifugační síly (RCF), se zachováním kritéria odstředování při 30 000 g - minutách. Z tabulky vyplývá, že čím je menší doba centrifugace, tím je třeba větší počet otáček [27].

Tabulka 4: Příklady doby centrifugace [27]

Doba centrifugace (minuty)	RCF (x g)	g-minuty
10	3 000	30 000
15	2 000	30 000
20	1 500	30 000

- Po centrifugaci je třeba vzorek převést do sekundární zkumavky a odstranit bubliny aplikační tyčinkou.
- U vzorků obsahující lipidovou vrstvu je nutné převést pouze čirý materiál [27].

#### • Skladování vzorků

- Sérum nebo plazmu je možné skladovat při pokojové teplotě maximálně 72 hodin.
- Sérum nebo plazmu oddělené od koagula, erytrocytů nebo gelového separátoru je možné skladovat při teplotě 2 až 8 °C maximálně 12 dní, nebo při - 20 °C až jeden rok bez úbytku metabolitů vitamínu D [27].

#### • Provedení metody

- Lahvičku s reagensy je třeba před vložením do systému promíchat a zajistit tak rozptýlení mikročástic.
- Po rozptýlení mikročástic se nasadí septum na lahvičku a tím se zabrání odpařování a kontaminaci reagentů a zajistí se její neporušenost.
- Reagenční souprava se vloží do systému ARCHITECT iSystem.
- Ověří se, zda jsou přítomny všechny potřebné reagenty v dostatečném množství a zda jsou na reakčních lahvičkách nasazena septa a je dostatečný objem vzorků ve zkumavkách.
- Promícháním se připraví kalibrátory a kontroly ARCHITECT 25 - OH vitamín D.
- Do systému ARCHITECT se vloží vzorky.
- Stiskem tlačítka RUN se zahájí měření [27].

- **Biologické principy metody**

Tato metoda využívající technologii CMIA s flexibilními protokoly se nazývá Chemiflex, což je kvantitativní jednokroková kompetitivní imunoanalýza sloužící ke stanovení přítomnosti vitamínu D v lidském séru a plazmě [27].

Postup:

- Nejdříve se smíchá vzorek, ředící roztok pro metodu a parametrické mikročástice potažené anti - vitamínem D.
- Přítomný 25 - OH vitamín D ve vzorku se uvolní z proteinu vázajícího vitamín D a naváže se na anti - vitamín D na mikročásticích a tím se vytvoří komplex antigen-protilátka.
- Po inkubaci se do reakční směsi přidá konjugát, který obsahuje vitamín D označený akridiniem, a naváže se na neobsazená vazebná místa anti - vitamínu D na mikročásticích.
- Po další inkubaci a promytí se do reakční směsi přidají roztoky Pre - Trigger a Trigger.
- Výsledná chemiluminiscenční reakce je měřena v relativních světelných jednotkách (RLU).
- Mezi množstvím 25 - OH vitamínu D ve vzorku a signálem v jednotkách RLU detekovaným optikou systému ARCHITECT iSystem existuje úměrnost.
- Na základě předem sestrojené kalibrační křivky se výsledky vypočtou automaticky [27].

- **Rozsah měření**

- Je to rozsah hodnot v jednotkách ng/ml nebo nmol/l, který splňuje přijatelnou funkčnost nepřesnosti, bias a linearity.
- Přesný rozsah měření metody ARCHITECT 25 - OH vitamín D je 3,4 - 155,9 ng/ml, tedy 8,5 - 389,8 nmol/l [27].

## **4.2 MATLAB**

MATLAB je systém využívaný v technických oborech a ekonomii. Představuje programovací prostředí a skriptovací programovací jazyk pro operační systémy. Rozšiřující knihovny funkcí MATLABu jsou zaměřené na specifické účely - statistiku, optimalizaci, neuronové sítě, zpracování signálů a obrazu apod. Nejenže tento systém umožňuje



vědeckotechnické výpočty, analýzy, modelování, simulace, programování a mnoho dalších, ale také umožňuje grafické zobrazení dat. Z toho důvodu byl program využit a vytvořil se kód za účelem zpracování shrnutí výsledků statistického souboru naměřených dat [36].

#### 4.2.1 Popis kódu vytvořeného v MATLABu

Jako výstup tohoto programu byl požadován tzv. boxplot (krabicový graf), který je vhodný zvláště v tomto případě, protože umožňuje zobrazení mediánu, maxima, minima, horního a dolního kvartilu v jednom přehledném grafu. Při zpracování dat v programu MATLAB byl používán celý soubor dat naměřených hodnot 25 - OHD u žen ve fertlním věku a jelikož jednotlivé věkové kategorie žen obsahovaly nestejně množství naměřených hodnot, byly vytvořeny tři krabicové grafy.

Nejprve za pomoci příkazu *clc*, *close all* a *clear all* bylo zajištěno vymazání aktuálního obsahu *Command window*, zavření všech dalších nepotřebných programů a vyčištění proměnných, aby nedošlo k jejich záměně.

```
clc
close all
clear all
```

Následně pomocí funkce *dlmread* byl načten textový soubor (*'Isloup.txt'*), který obsahoval tabulku se všemi naměřenými hodnotami 25 - OHD pro věkovou kategorii žen od 18 do 29 let.

```
a = dlmread('Isloup.txt');
```

K popisu x-ové osy bylo použito textové pole, které bylo implementováno z programovacího jazyku Java do programu MATLAB, datového typu *cell* [37].

```
strArray = java_array('java.lang.String',1);
strArray(1) = java.lang.String('18 - 29 let');
cellArray = cell(strArray);
```

Aby mohly být všechny tři grafy v jednom obrázku, byl použit příkaz *subplot* se zadanými parametry - pozicemi jednotlivých krabicových grafů. Příkazem *boxplot* uloženém do proměnné *d*, byl vytvořen krabicový graf se zadanými parametry - proměnná *a* obsahuje načtená data ke zpracování, parametr *whisker*

s hodnotou 7 udává maximální délku tzv. vousu, který zobrazuje v tomto případě maximum a minimum zpracovávaných dat, parametr *labels* s proměnnou *cellArray* zobrazuje zadané proměnné popisující osu x a parametr *widths* s hodnotou 0,2 udává šířku krabicového zobrazení. Funkcí *ylabel* se zadanou proměnnou '*Hladina 25-OHD (nmol/l)*' byla popsána osa y.

```
subplot(1,3,1)
d=boxplot(a,'whisker',7,'widths',0.2,'labels',cellArray)
ylabel('Hladina 25-OHD (nmol/l)');
```

Stejným postupem byly vytvořeny i další dva krabicové grafy pro věkové kategorie žen 30 - 39 let a 40 - 49 let. Naměřené hodnoty 25 - OHD byly načteny ze souborů '*2sloup.txt*' a '*3sloup.txt*', které odpovídají naměřeným hodnotám 25 - OHD zbylých dvou věkových kategorií žen. Jedinými změnami bylo vytvoření popisu x-ové osy pomocí funkce *xlabel* s parametrem '*Věkové skupiny žen*' a jinak pojmenované proměnné pro uložení příkazů.

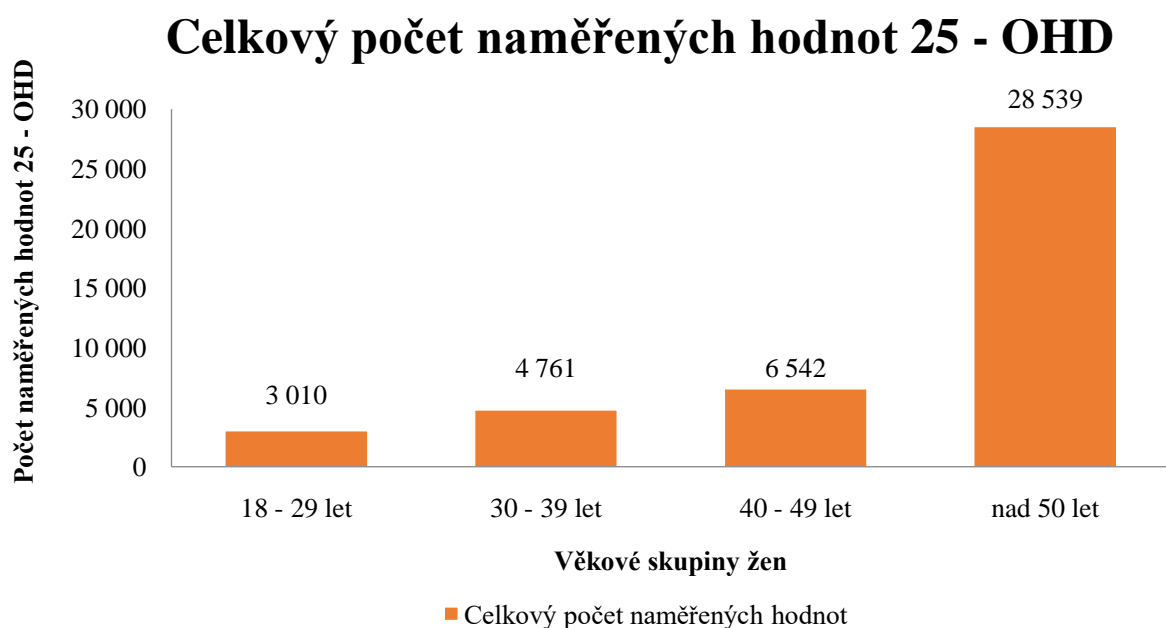
```
b = dlmread('2sloup.txt');
strArray2 = java_array('java.lang.String',1);
strArray2(1) = java.lang.String('30 - 39 let');
cellArray2 = cell(strArray2);
subplot(1,3,2)
e = boxplot(b,'whisker',7,'widths',0.2,'labels',cellArray)
xlabel('Věkové skupiny žen');
```

```
c = dlmread('3sloup.txt');
strArray3 = java_array('java.lang.String',1);
strArray3(1) = java.lang.String('40 - 49 let');
cellArray3 = cell(strArray3);
subplot(1,3,3)
f = boxplot(c,'whisker',7,'widths',0.2,'labels',cellArray)
```

Výsledkem tohoto programu je krabicový graf (Obrázek 12) zobrazující shrnutí statisticky zpracovaných dat naměřených hladin 25 - OHD u jednotlivých věkových skupin žen ve fertilním věku.

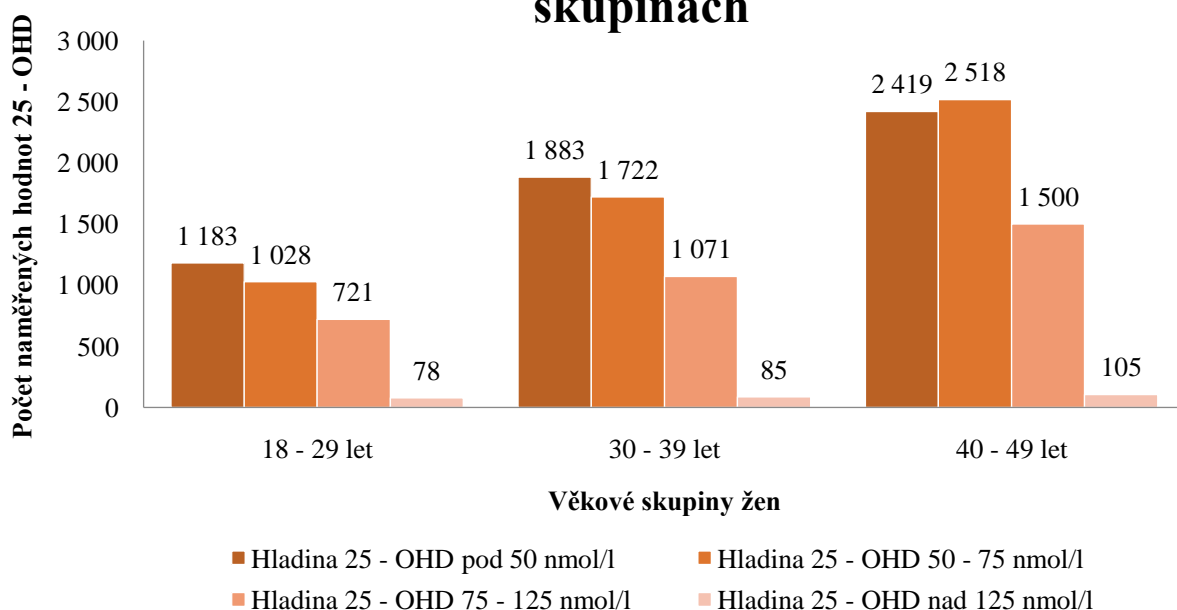
## 5 VÝSLEDKY

Výsledky experimentální části bakalářské práce byly zpracovány z naměřených hodnot 25 - OHD v soukromé laboratoři Synlab czech s.r.o. se sídlem v Jankovčově ulici v Praze za období od 2. 1. 2013 do 30. 12. 2016. Ke zpracování souboru 14 313 naměřených hladin 25 - OHD u žen ve fertilním věku byl použit Microsoft Office Excel 2007, matematický software R (včetně výpočtu analýzy rozptylu - ANOVA) a program MATLAB pro vytvoření krabicového grafu.



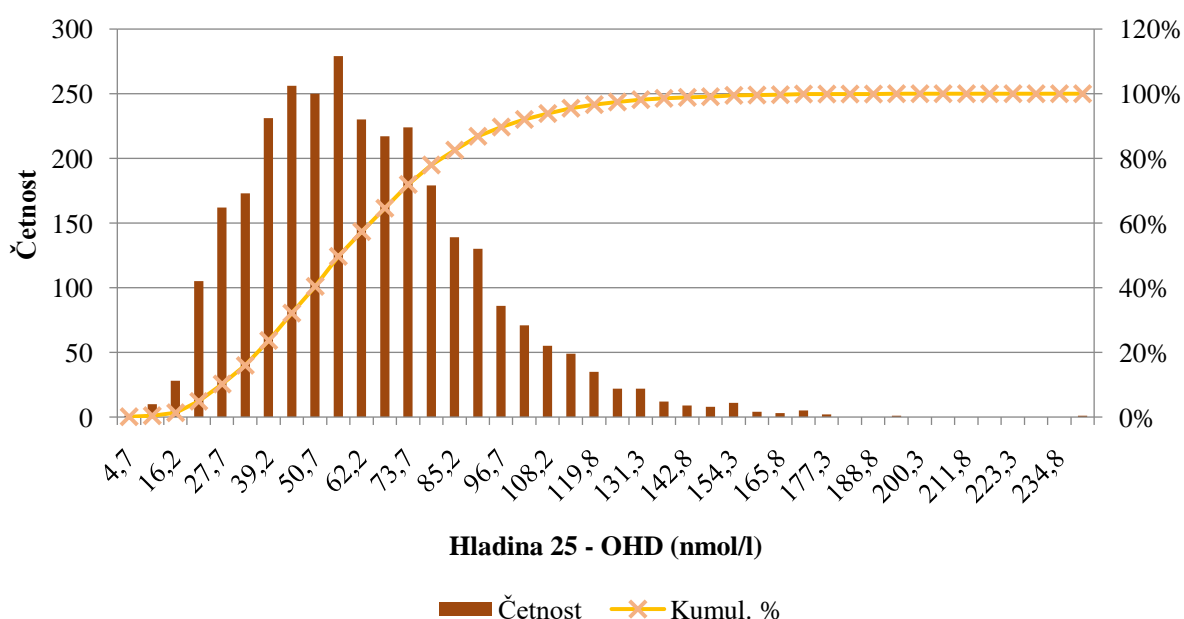
Obrázek 6: Celkový počet naměřených hodnot 25 - OHD u vybraných věkových skupin žen ve fertilním věku

## Rozdělení počtu naměřených hodnot podle hladin 25 - OHD v jednotlivých věkových skupinách



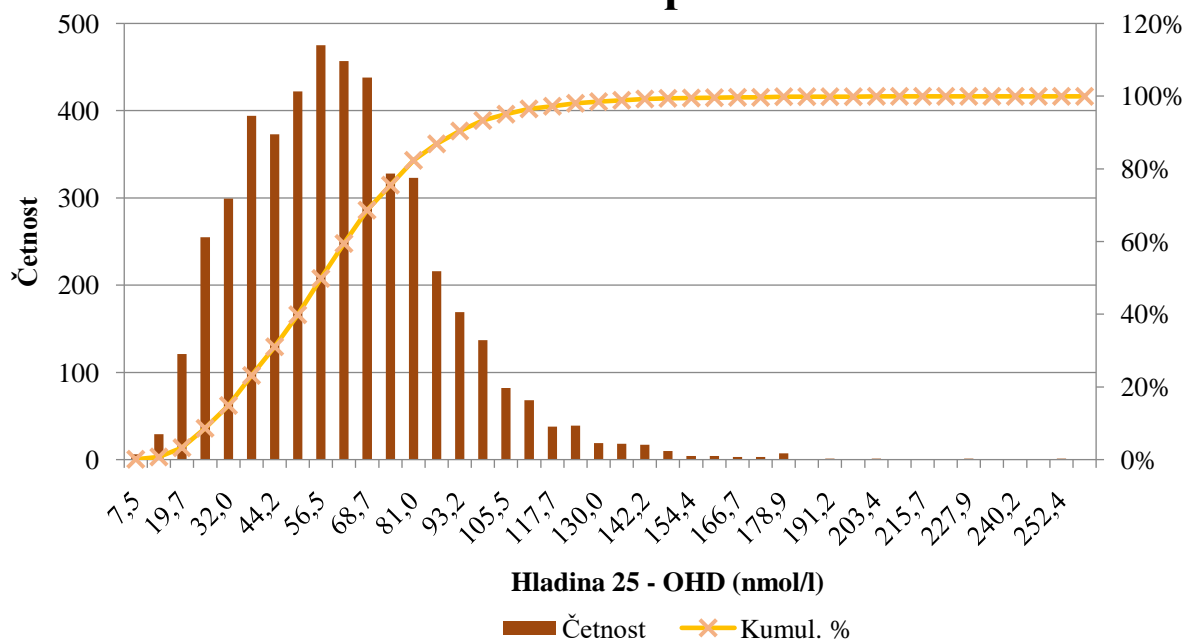
Obrázek 7: Rozdělení počtu naměřených hodnot 25 - OHD podle hladin 25 - OHD v jednotlivých věkových skupinách žen ve fertilním věku

## Histogram naměřených hodnot 25 - OHD u žen ve věkové skupině 18 - 29 let



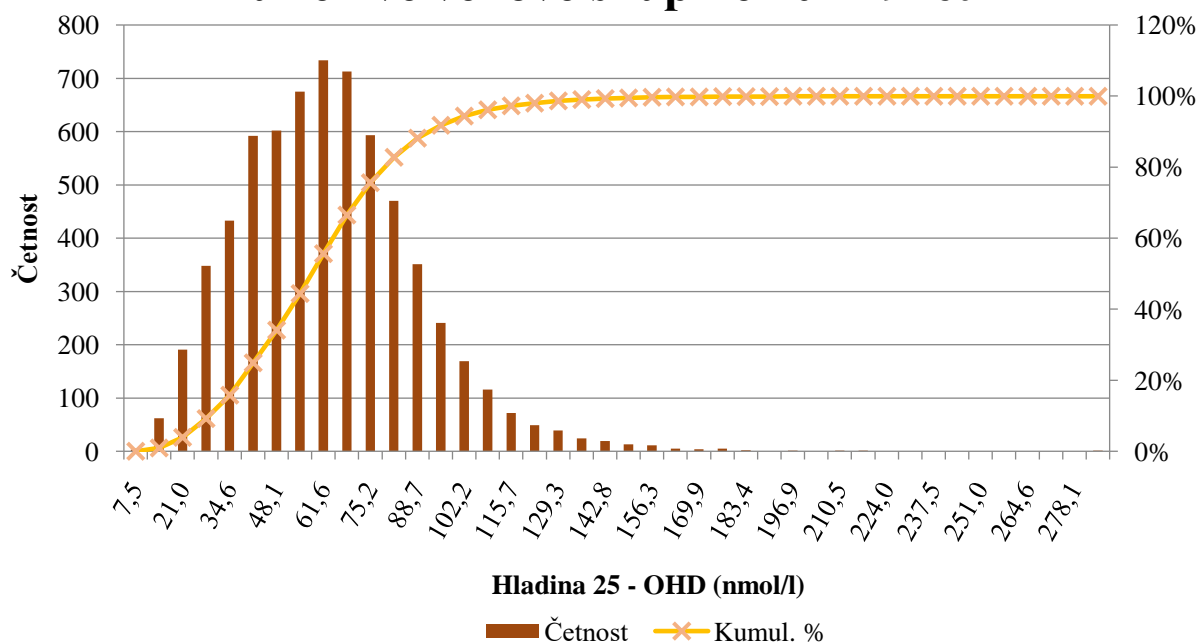
Obrázek 8: Histogram naměřených hodnot 25 - OHD u žen ve věkové skupině 18 - 29 let

## Histogram naměřených hodnot 25 - OHD u žen ve věkové skupině 30 - 39 let

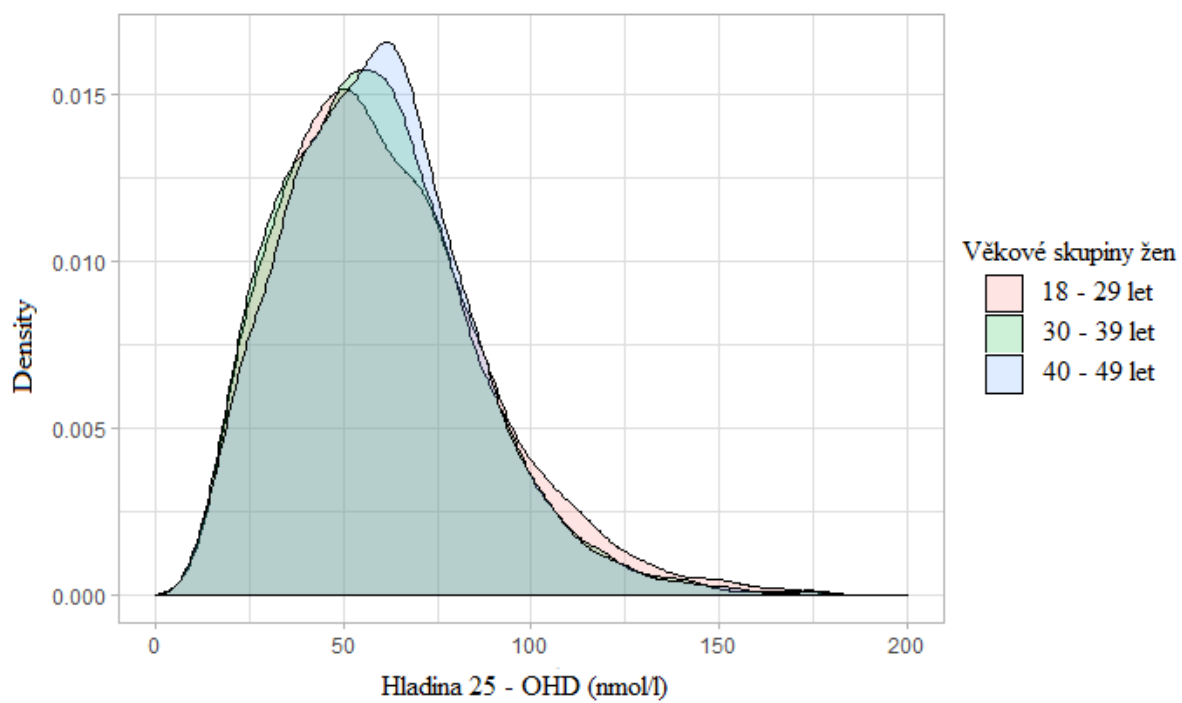


Obrázek 9: Histogram naměřených hodnot 25 - OHD u žen ve věkové skupině 30 - 39 let

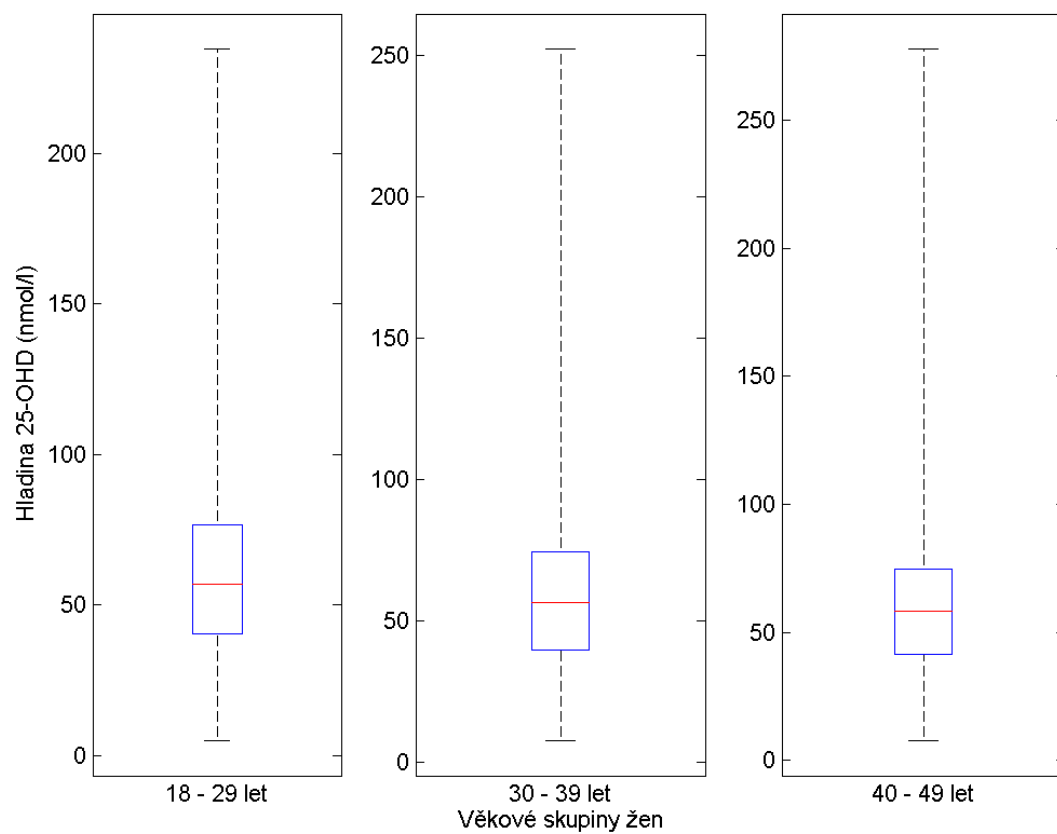
## Histogram naměřených hodnot 25 - OHD u žen ve věkové skupině 40 - 49 let



Obrázek 10: Histogram naměřených hodnot 25 - OHD u žen ve věkové skupině 40 - 49 let



Obrázek 11: Srovnání naměřených hodnot 25 - OHD ve věkových skupinách (vytvoreno v matematickém softwaru R)

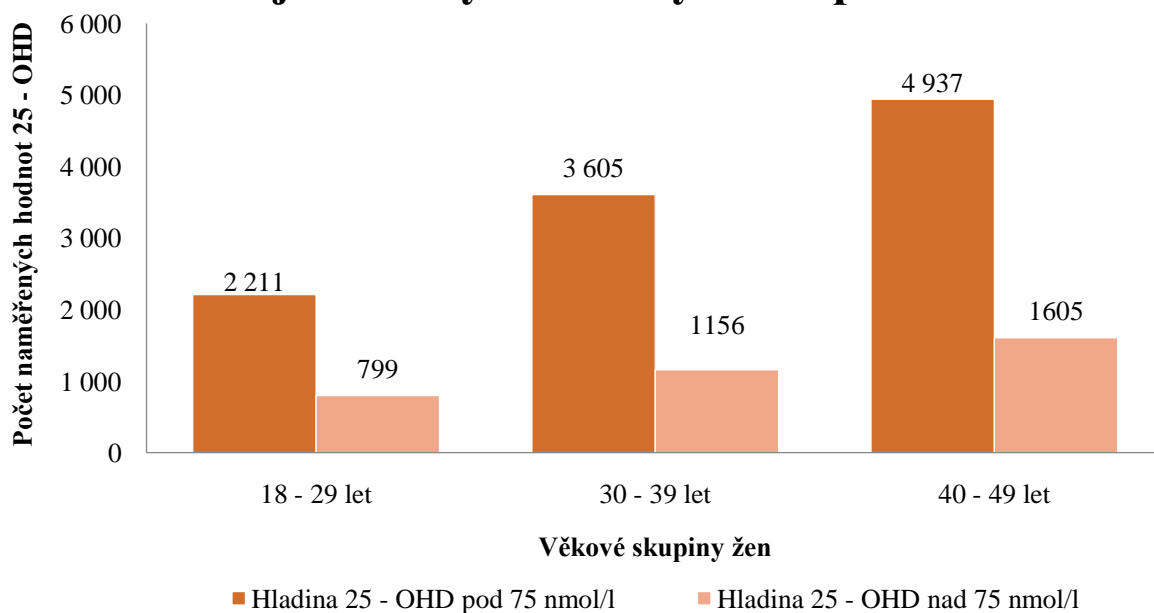


Obrázek 12: Boxplot (vytvoreno v programu MATLAB)

Tabulka 5: Souhrnné hodnoty naměřených hladin 25 - OHD u žen ve fertilním věku

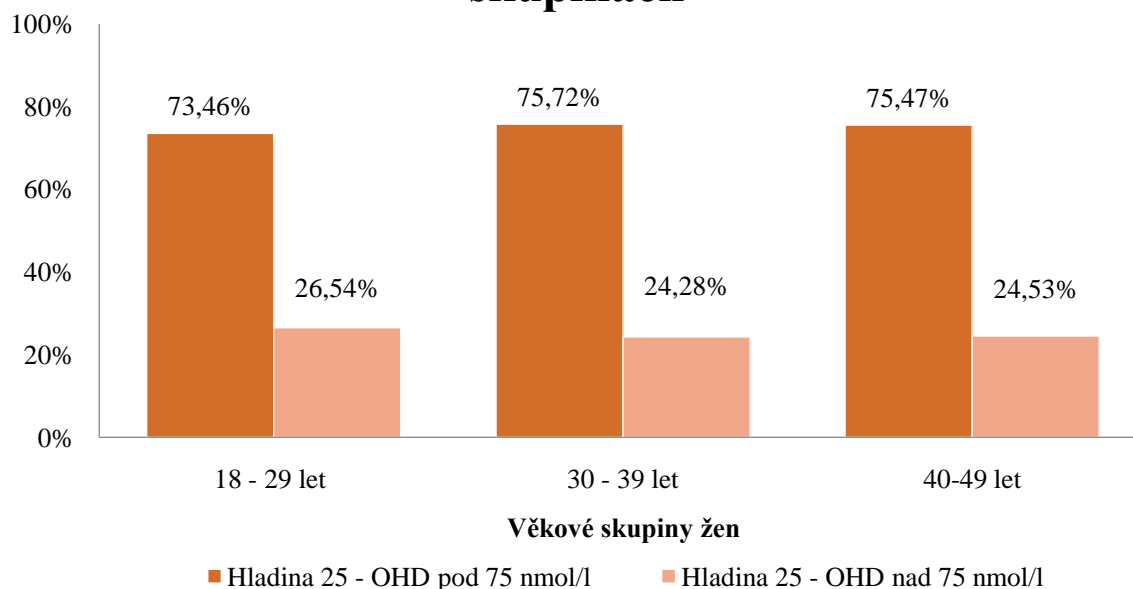
Hladina 25 - OHD (nmol/l)	18 - 29 let	30 - 39 let	40 - 49 let
<b>Minima</b>	4,7	7,5	7,5
<b>Dolní kvartil</b>	40,3	39,7	41,4
<b>Medián</b>	56,7	56,6	58,5
<b>Horní kvartil</b>	76,5	74,3	74,6
<b>Maxima</b>	234,8	252,4	278,1

### Počty naměřených hladin 25 - OHD v jednotlivých věkových skupinách



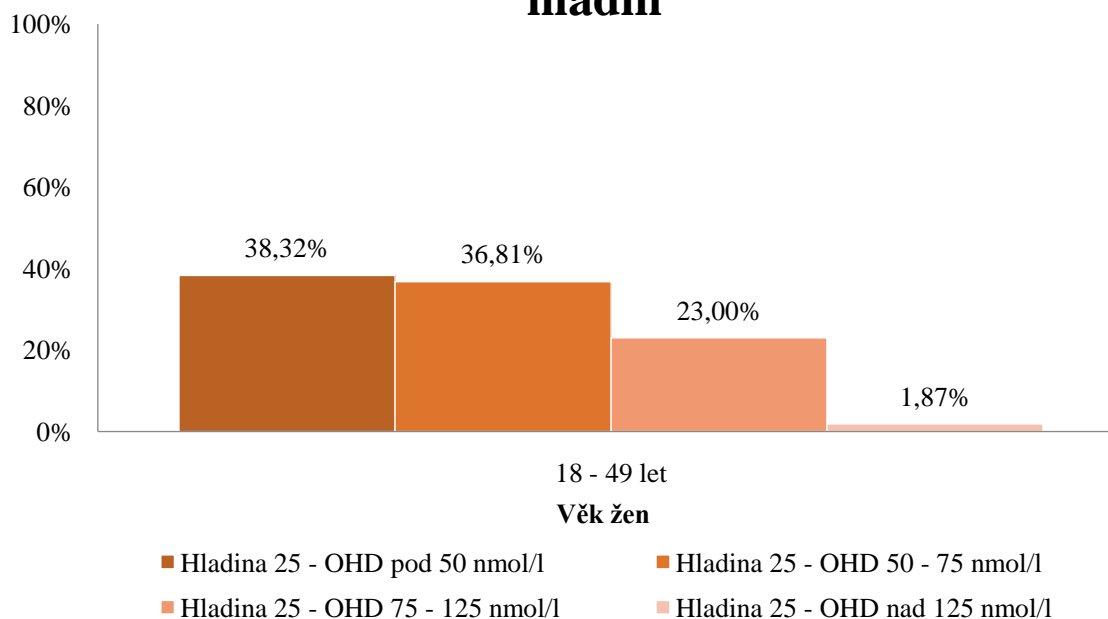
Obrázek 13: Počty naměřených hladin 25 - OHD v jednotlivých věkových skupinách žen ve fertilním věku

## Procentuální zastoupení počtu měření 25 - OHD v jednotlivých věkových skupinách



Obrázek 14: Procentuální zastoupení počtu naměřených hladin 25 - OHD v jednotlivých věkových skupinách

## Shrnující procentuální zastoupení počtu naměřených hladin 25 - OHD v rozmezí hladin



Obrázek 15: Shrnující procentuální zastoupení počtu naměřených hladin 25 - OHD v rozmezí hladin u žen ve fertilním věku



Tabulka 6: Porovnání parametrů od roku 2013 do roku 2016 u žen ve fertilním věku

<b>Rok</b>	<b>Průměr hladiny 25 - OHD (nmol/l)</b>	<b>Počet naměřených hodnot 25 - OHD</b>	<b>Hodnota úhrnné plodnosti</b>
<b>2013</b>	58,83	1476	1,45
<b>2014</b>	57,77	2150	1,52
<b>2015</b>	63,31	5571	1,57
<b>2016</b>	56,82	5116	-

## 6 DISKUZE

Vitamín D podle Friedeckého a Vávrové [25] v tomto desetiletí vedl k rozvoji v možnostech jeho laboratorního stanovení. Zejména díky stále se objevujícím novým funkcím a dalších pozitivních vlivů působících na organismus. Působení vitamínu D je podle publikací spojováno s astmatem, rakovinou prsu a rakovinou jiných orgánů, diabetem I. i II. typu, roztroušenou sklerózou, Parkinsonovou chorobou nebo ischemickou chorobou srdeční a dalšími chorobami. Stanovením hladiny 25 - OHD se zjistí hladina vitamínu D v organismu. V případě naměření nízké hladiny 25 - OHD je třeba zahájit substituci tak, aby měl organismus dostatečné množství tohoto vitamínu. Dostatečná hladina je samozřejmě nezbytná u každého člověka. V této bakalářské práci je však pozornost věnována právě ženám ve fertilním období. Fertilita je obdobím, kdy se ženám otevírá možnost otěhotnění po splynutí mužské a ženské pohlavní buňky. Těhotenství je následně základem vzniku nového života, kdy zdrojem veškerých látek, živin, tedy i vitamínu D pro plod je právě žena, budoucí matka. Za problém dnešní doby se považuje odkládání těhotenství do vyššího věku ženy, ačkoliv je všeobecně známo stoupající riziko narození jedince s vrozenou vadou, nebo možný vznik dalších komplikací. Již méně znám je pokles plodnosti ženy s přibývajícím věkem. Podle Bartáka [30] k prvním známkám vyhasínání činnosti vaječnicků, podle stanovení koncentrace hormonů, může docházet ve věku, kdy si žena ještě vůbec nemyslí, že je stará, a to už dlouho před čtyřicítkou. Je však také třeba počítat s určitým omezením správné funkce spermií. Tyto informace vedou ke zjištění, že u žen ve věku do 25 let je 25% pravděpodobnost otěhotnění. Tedy aby žena v tomto věku otěhotněla, musí mít v plodných dnech 4 měsíce nechráněný pohlavní styk. U žen ve věku 30 let je pravděpodobnost otěhotnění 16 % a u 40letých žen je pouhá 5% pravděpodobnost otěhotnění. Důvodem snižující se plodnosti s přibývajícím věkem žen je působení všech vlivů na oocyty a jejich stárnutí. Fyziologicky se již vytvořily v prenatalním vývoji, tedy ještě v děloze matky. Až začátkem pohlavní zralosti s každým menstruačním cyklem jeden z vytvořených oocytů dozrává. Odkládání těhotenství je podle Bartáka [30] problém, který má globální dopady. Jelikož odsunování těhotenství do pozdějšího věku přináší menší počet narozených dětí a dochází tak k vymírání populace.

Nejen na základě informace ve studii, kde Salas-Huetos a kolektiv [31] uvádí, že neplodnost je celosvětovým problémem veřejného zdraví postihující 15 % všech párů v reprodukčním věku, se dnes provádějí různé výzkumy, studie zabývající se plodností,

neplodností a těhotenstvím ve spojitosti s vitamínem D. V jedné z nich Paffoni a jeho kolektiv [34] označuje vitamín D jako faktor ovlivňující ženskou plodnost a také výsledek IVF. Autoři ale poukazují na nutnost dalších doplňkových studií, které by potvrdily souvislosti a zkoumaly potenciální léčebné přínosy suplementace vitamínu D. Pokračovat v těchto studiích by bylo velkým přínosem už z toho důvodu, že suplementace vitamínem D je jednoduchou a levnou možností léčby bez významných vedlejších účinků a také proto, že suplementací může dojít k zabránění vzniku možných komplikací, jako například DM nebo preeklampsie.

Po získání informací o funkcích a možnostech stanovení tohoto, ačkoli se zdá nenápadného ale velice zajímavého a důležitého vitamínu D, byly zpracovány naměřené hodnoty hladin 25 - OHD. Tyto hodnoty byly naměřeny v soukromé laboratoři Synlab czech s.r.o. se sídlem v Jankovčově ulici v Praze pomocí systému Abbott ARCHITECT 25 - OH vitamín D. Používanou jednotkou 25 - OHD ve zkoumaném souboru dat byl nmol/l. Analýza dat byla provedena z naměřených hodnot 25 - OHD za období od 2. 1. 2013 do 30. 12. 2016. Během této doby bylo naměřeno celkem 67 924 hladin 25 - OHD. Pro potřeby této bakalářské práce byla zaměřena pozornost jen na určitou skupinu z tohoto souboru dat. Konkrétně se jednalo o skupinu žen ve fertilním věku, tedy ve věku 18 až 49 let. Cílem bylo vytvořit věkové skupiny s datem narození v rozmezí deseti let. Z důvodu úplnosti a dodržení rozsahu dat byly do třetí skupiny (ženy ve věku 40 až 49 let) zařazeny i ženy mezi 45 až 49 rokem. I přes to, že některé z nich již mohly být v období klimakteria. Jelikož období pohlavní zralosti, kdy může dojít k oplodnění, těhotenství a narození nového jedince začíná přibližně od 18 let, byla skupinka žen mezi 18 až 20 lety zařazena mezi první věkovou skupinu žen. Ženy tedy byly rozděleny do tří hlavních věkových skupin: 18 - 29 let, 30 - 39 let a 40 – 49 let.

Do vybraného souboru naměřených hladin 25 - OHD byly zařazeny hladiny naměřené u náhodného, obecného souboru žen. Díky tomu bylo možné pracovat s poměrně velkým souborem dat, ve kterém bylo naměřeno celkem 14 313 hladin 25 - OHD. Současně ale od tohoto souboru dat nelze očekávat zaměření na onemocnění nebo poruchu fertility. A to z toho důvodu, že nelze spoléhat na diagnózu pacientek uvedenou na žádance, která se zasílá do laboratoře spolu s biologickým materiálem.

V grafu (Obrázek 6) jsou znázorněny celkové počty naměřených hodnot 25 - OHD u jednotlivých věkových skupin žen. Ve věkové skupině 18 - 29 let bylo naměřeno

3 010 hodnot 25 - OHD. V další věkové skupině (30 - 39 let) se jednalo o 4 761 naměřených hodnot 25 - OHD. Ve věku 40 - 49 let bylo naměřeno 6 542 hodnot 25 - OHD a u poslední věkové skupiny žen (nad 50 let) celkem 28 539 hodnot 25 - OHD. V experimentální části bakalářské práce však bylo cílem pracovat s hodnotami naměřenými u žen ve fertilním věku. Tedy informace o skupině naměřených hodnot 25 - OHD u žen ve věku nad 50 let jsou pouze doplňující. U žen ve fertilním věku bylo zpracováno celkem 14 313 naměřených koncentrací 25 - OHD v krvi. Graf (Obrázek 7) znázorňuje celkové počty naměřených koncentrací v jednotlivých věkových skupinách, které se rozdělily podle rozmezí hladin 25 - OHD (viz Tabulka 1). Ve věkové skupině žen 18 - 39 let je nejvyšší počet měření v hladině pod 50 nmol/l 25 - OHD, následuje hladina 25 - OHD pod 75 nmol/l a až poté fyziologická hladina 75 - 125 nmol/l. Nejméně naměřených hodnot 25 - OHD se nachází v hladině nad 125 nmol/l. Ve věkové skupině 40 - 49 let je nejvyšší počet naměřených hodnot 25 - OHD v hladině 50 - 75 nmol/l, následuje hladina pod 50 nmol/l, dále hladina ve fyziologickém rozmezí 75 - 125 nmol/l a nejméně naměřených hodnot 25 - OHD zahrnuje hladina nad 125 nmol/l.

Histogramy (Obrázek 8, Obrázek 9, Obrázek 10), které pomocí grafického znázornění distribuce dat, podávají informaci o četnosti dat v jednotlivých věkových skupinách, informují o nejčtenější hodnotě 25 - OHD, jejíž hladina ve věku žen 18 - 49 let se nachází v rozmezí 50 - 75 nmol/l, tedy pod fyziologickou hodnotou. Dále grafem (Obrázek 11) bylo zjištěno, že se rozdělení pozorované skupiny podobá log-normálnímu rozdělení a nejedná se tedy o normální (Gaussovo) rozdělení. Porovnáním skupin žen ve věku 30 až 39 let a 40 až 49 let pomocí one-way ANOVA byl zjištěn statisticky významný rozdíl hladiny sérového 25 - OHD ( $p = 0,050$ ).

Na tuto informaci také navazuje další graf, tzv. boxplot (Obrázek 12). Hodnoty, které zobrazuje, odpovídají tabulce (viz Tabulka 5). Boxplot znázorňuje medián hladiny 25 - OHD, který se u vybraných třech věkových skupin žen pohybuje mezi 56 - 59 nmol/l neboli v hodnotách vypovídajících o stavu snížené zásoby vitamínu D. Dolní kvartil se nachází v rozmezí 40 - 42 nmol/l, tedy v hodnotách deficitního stavu. Horní kvartil se nachází v rozmezí 74 - 77 nmol/l, tedy v nejnižších hodnotách, což jsou hodnoty dolní hranice fyziologického rozmezí hladiny 25 - OHD. Minimum a maximum hodnoty se můžou označit za extrémní hodnoty měřeného 25 - OH vitamínu D.

Jak nedostatek, tak i nadbytek vitamínu D má na organismus vliv, který na to odpovídá určitým způsobem. Pozornost byla věnována zejména jeho vlivu a důležitosti v průběhu těhotenství a fertilitě. Jelikož gravidita je pro ženu obdobím kladoucím velké požadavky na její organismus, většina problémů se spojuje právě s nedostatkem vitamínu D. Vzhledem k tomu, že v hladinách nad 125 nmol/l vypovídajících o toxickém stavu a intoxikaci byl naměřen menší počet hodnot 25 - OHD, již této skupině nebyla věnována větší pozornost. Analýza dat u žen ve fertlím období se dále zaměřila právě na hladinu 75 nmol/l, hranici fyziologické hladiny naměřeného 25 - OHD, jenž vypovídá o stavu dostatečné saturace.

Graf (Obrázek 13) popisuje počty jednotlivých věkových skupin žen ve fertlím období podle rozhraní fyziologické hladiny, tedy hladiny 75 nmol/l 25 - OHD. Počty jsou rozděleny podle věku a současně na skupiny s naměřenou hladinou 25 - OHD pod a nad 75 nmol/l. Tento graf je také podkladem pro jeden z dílčích cílů, kterým bylo zjistit trend hladiny 25 - OHD v závislosti na věku žen a počtu naměřených hladin 25 - OHD ze shromážděných hodnot za určité období. Z grafu je zřetelný trend růstu počtu měření hladiny 25 - OHD se zvyšujícím se věkem žen. To potvrzuje i informace z celkového souboru dat, jelikož ve věkové skupině žen nad 50 let, které již nespádají do vybraného souboru dat, bylo naměřeno celkem 28 539 hladin 25 - OHD. A pro tento trend také platí to, že v rozmezí pod 75 nmol/l bylo vždy více naměřených hladin 25 - OHD než v rozmezí nad 75 nmol/l.

Další graf (Obrázek 14) podává informaci o procentuálním zastoupení počtu naměřených hladin 25 - OHD u žen ve třech věkových skupinách. Tyto hodnoty byly počítány z celku v jednotlivých věkových skupinách, které jsou znázorněny v prvním grafu (Obrázek 6). Pro výpočet procentuálního zastoupení počtu naměřených hladin 25 - OHD ve skupině žen 18 - 29 let byl jako 100 % použit celkový počet 3 010 naměřených hladin 25 - OHD, ve věkové skupině 30 - 39 let se použil počet 4 761 a v poslední věkové skupině se použil celkový počet 6 542. Z těchto výpočtů se zjistilo, že ve všech věkových skupinách je podobné procento naměřených hodnot 25 - OHD v hladině jak pod fyziologickou koncentrací 75 nmol/l, tak i ve fyziologických rozmezích a hladinách toxických pro organismus (koncentrace nad 75 nmol/l). U vybraných věkových skupin žen je v průměru 74,88 % naměřených hodnot pod fyziologickou hladinou 25 - OHD a v průměru 25,11 % naměřených hodnot v rozmezí nad 75 nmol/l. Toto zjištění vede

k informaci, že 74,88 % žen ve fertilním věku má naměřenou hladinu pod fyziologickou hladinou 75 nmol/l.

Hlavní informace vycházející z grafu (Obrázek 15) je procentuální rozložení počtu naměřených hodnot v jednotlivých rozmezích hladin 25 - OHD u žen ve fertilním věku. Procentuálního rozdělení bylo docíleno pomocí výpočtu, kdy jako 100 % byl použit celkový počet naměřených hodnot 25 - OHD, tedy 14 313, a to u každé věkové skupiny. Proto tento graf informuje o procentuálním zastoupení počtu naměřených hodnot 25 - OHD právě podle daného rozmezí hladin 25 - OHD. Je zde rozlišena hladina 25 - OHD pod 50 nmol/l, kde se naměřilo celkem 38,32 % hodnot 25 - OHD, v hladině 50 - 75 nmol/l se naměřilo 36,81 % hladin 25 - OHD. V hodnotách spadajících do fyziologického rozmezí bylo naměřeno pouze 23 % hladin 25 - OHD. A 1,87 % hladin 25 - OHD bylo naměřeno v rozmezí nad 125 nmol/l.

Podle dat z českého statistického úřadu [32], [33] z hlediska porodnosti v české populaci proběhlo v posledních dvaceti letech mnoho změn. Pro splnění dílčího cíle byly vybrány informace ze statistických údajů týkajících se intenzity plodnosti a hodnoty úhrnné plodnosti. Bylo zjištěno, že se během posledních let změnila intenzita plodnosti v různých věkových skupinách. Tedy u žen 27letých a mladších se míra plodnosti (počet živě narozených dětí ženám v určitém věku, připadající na 1 000 žen v tomto věku [38]) mírně snížila a naopak u 28letých a starších se výrazně zvýšila. Dále také ze statistických hodnot vyplývá, že se v posledních 20 letech měnila i hodnota úhrnné plodnosti. Hodnota úhrnné plodnosti představuje počet dětí, které by se živě narodily každé ženě během celého jejího reprodukčního věku (15 - 49 let), pokud by se během tohoto období neměnily míry plodnosti žen podle věku a zůstaly na úrovni věku, za který je úhrnná plodnost vypočítána. Je také předpokládána nulová úmrtnost žen během reprodukčního cyklu. Tento ukazatel se vztahuje k jedné ženě [38]. Hodnota úhrnné plodnosti pro zachování reprodukce je 2,1 dítěte. V roce 1979 hodnota úhrnné plodnosti ještě tohoto limitu dosahovala, jelikož byla 2,29 dítěte na ženu. V roce 1993 se snížila na hodnotu 1,67 a od roku 1996 do roku 2006 se hodnota pohybovala okolo hodnoty 1,33. Z toho důvodu Česká republika patřila ke státům s velmi nízkou úrovní plodnosti. Od roku 2007 hodnota úhrnné plodnosti postupně narůstala a v roce 2015 byla 1,57, což je nejvyšší hodnota od roku 1993. Stále ještě však nedosahuje hodnoty pro zachování reprodukce.

Porovnání naměřené hladiny 25 - OHD v posledních 20 letech s hodnotami úhrnné plodnosti nebylo možné, jelikož sledovaný analyt (25 - OHD) dříve nepatřil ke skupině standardně měřených parametrů. Pozornost proto byla zaměřena jen na období od roku 2013 do roku 2016, ze kterého jsou k dispozici naměřené hodnoty 25 - OHD. Za každý rok ve sledovaném období je vyjádřena v tabulce (Tabulka 6) průměrná hladina 25 - OHD, počet měřených hladin 25 - OHD a hodnota úhrnné plodnosti. Hodnota úhrnné plodnosti z roku 2016 chybí, jelikož dokument Českého statistického úřadu [33], ze kterého tato informace vychází, se vydává za určité období a informace z tohoto roku ještě nebyla k dispozici. Ze získaných informací je ale zřejmé, že hodnota úhrnné plodnosti od roku 2013 stoupá. Stoupá také počet naměřených hladin 25 - OHD. V roce 2016 je ale zřejmý mírný pokles oproti roku 2015. Naopak průměrná hladina 25 - OHD do roku 2014 klesá a nedosahuje hladiny 60 nmol/l. V roce 2015 byl ale nárůst této hodnoty přes 60 nmol/l, v roce 2016 opět klesla hodnota 25 - OHD pod hladinu 60 nmol/l. Pozorovaný nárůst v roce 2015 mohl být způsoben největším počtem naměřených hladin 25 - OHD. Lze tedy říci, že hodnoty úhrnné plodnosti a počty naměřených hladin 25 - OHD od roku 2013 pozvolna rostou, ale hodnoty naměřené hladiny 25 - OHD v posledních třech letech nedosahují ideálních fyziologických hladin aktivní formy vitamínu D v organismu a lze tedy očekávat zdravotní problémy v populaci žen ve fertilním věku spojované s nedostatkem tohoto vitamínu.

Vzhledem ke zvyšujícímu se zájmu o měření hladiny 25 - OHD za poslední tři roky, bylo nezávisle osloveno dvanáct gynekologicko - porodnických pracovišť v České republice. Na základě získaných informací se zjistilo, že u skupiny žen ve fertilním věku nebývá cíleně stanovována hladina 25 - OHD v krvi z důvodu neplodnosti nebo poruchy fertility. Tato informace tedy naznačuje vysvětlení velkého procenta (74,88 %) naměřených hladin 25 - OHD pod fyziologickým rozmezím, v rozmezích patřících do stavu snížené zásoby, nebo deficitních nedostatků u žen ve fertilním věku. Neboť u žen nebývá nízká hladina stanovena a není jim podávána ani suplementace vitamínu D. Ženy ve fertilním věku jsou tedy nedostatečně saturovány tímto vitamínem. K podobnému závěru, a to i přes tropické podnebí, došla studie prováděná brazilskými vědci. Lze jen souhlasit s kolektivem autorů [35], který poukazuje na nutnost dalších studií, které by určily, zda by nedostatek vitamínu D mohl mít vliv na výsledky léčby neplodnosti.

## 7 ZÁVĚR

Hlavním cílem bakalářské práce s názvem „Vliv vitamínu D na průběh gravidity a kostní metabolismus u žen ve fertilním věku“ bylo zaměřit se na vliv vitamínu D jako marker potenciální gravidity. Z výsledků praktické části bakalářské práce vedou informace k závěru, že hladina vitamínu D (přesněji 25 - OHD) se stanovuje a zájem o toto stanovení roste. Hladina 25 - OHD však nebývá měřena cíleně u žen ve fertilním věku, které by plánovaly těhotenství, nebo měly poruchu fertility. A to i přes to, že již existují některé studie popisující vliv vitamínu D v organismu matky na vyvíjející se plod.

V souboru naměřených hladin 25 - OHD ze soukromé laboratoře Synlab czech s.r.o. se sídlem v Jankovčově ulici v Praze byl zjištěn rostoucí trend počtu naměřených hladin 25 - OHD s rostoucím věkem žen. Indikace tohoto vyšetření u žen s vyšším věkem však nebývá z reprodukčních důvodů, ale z důvodu vzniku osteoporózy a jiných kostních onemocnění, které se projevují ve vyšším věku také z důvodu nedostatku vitamínu D. K interpretaci výsledků naměřených hodnot 25 - OHD je třeba přistupovat s ohledem na celkový stav pacienta a se zohledněním celosvětové problematiky nedostatečné srovnatelnosti systematické difference mezi metodami stanovující 25 - OHD.

Ze statistických údajů bylo zjištěno, že zlomový se stal rok 1993, ve kterém klesla hodnota úhrnné plodnosti na hodnotu 1,67 dítěte na ženu. Klesající trend hodnoty úhrnné plodnosti od tohoto roku přetrvával do roku 2007, kdy byl sledován opět postupný nárůst. Rostoucí hodnoty hladiny úhrnné plodnosti byly také zjištěny od roku 2013 do 2016. V tomto období stoupá také počet naměřených hladin 25 - OHD. V roce 2016 je ale zřejmý mírný pokles oproti roku 2015. Naopak průměrná hladina 25 - OHD v roce 2013 i 2014 klesá a nedosahuje hladiny 60 nmol/l. V roce 2015 byl nárůst této hodnoty přes 60 nmol/l, naopak v roce 2016 opět klesla hodnota 25 - OHD pod hladinu 60 nmol/l.

Z vybraného souboru naměřených hodnot 25 - OHD v krvi u žen ve fertilním věku bylo zjištěno, že 74,88 % žen mělo naměřenou hladinu 25 - OHD pod fyziologickou hodnotou 75 nmol/l. Pouze 23 % hodnot 25 - OHD se vyskytovalo ve fyziologickém rozmezí. Lze tedy očekávat zdravotní problémy v populaci žen ve fertilním věku spojované s nedostatkem tohoto vitamínu. Tento závěr, ke kterému došli také brazilští vědci [35], by mohl vést k dalším studiím, které by objasnily, zda má nedostatek vitamínu D vliv na výsledky léčby neplodnosti.



## 8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

ABR	Acidobazická rovnováha
AMK	Aminokyselina
Ca	Calcium, vápník
CMIA	Chemiluminescent microparticle immunoassay, chemiluminiscenční imunoanalýza na mikročásticích
CT	Kalcitonin
Cu	Cuprum, měď
CV	Reprodukovatelnost (mezilaboratorní preciznost)
DBP	Vitamin D binding protein, vitamín D vázající protein
dl	Decilitr (jednotka objemu)
DM	Diabetes mellitus
DMIA	Chemiluminiscenční imunoanalýza na mikročásticích
ELISA	Enzyme linked immuno sorbent assay
GDM	Gestační diabetes mellitus
ID-LC-MS/MS	Izotopová diluce - kapalinové chromatografie - tandemové hmotnostní spektrometrie
IU	Mezinárodní jednotka
IVF	In vitro fertilizace
mg	Miligram (jednotka hmotnosti)
Mg	Magnesium, hořčík
ml	Mililitr (jednotka objemu)
nm	Nanometr (jednotka délky)
Mn	Manganum, mangan
µg	Mikrogram (jednotka hmotnosti)
Mo	Molybdaenum, molybden
Na	Natrium, sodík
ng	Nanogram (jednotka hmotnosti)
PO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Fosfátový aniont
PTH	Parathormon
RCF	Relative centrifugal force, relativní centrifugační síla
RIA	Radioimunoanalytická analýza
RLU	Relative light units, relativní světelná jednotka
UV	Ultrafialové záření
VDR	Vitamín D jaderný receptor

Zn

25 - OHD

7 - DHC

Zincum, zinek

25 - hydroxyvitamín D = kalcidiol

7 - dehydrocholesterol

## 9 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] RACEK, Jaroslav. *Klinická biochemie*. 2., přeprac. vyd. Praha: Galén, c2006, 329 s. ISBN 80-7262-324-9.
- [2] MATOUŠ, Bohuslav. *Základy lékařské chemie a biochemie*. Praha: Galén, 2010, 540 s. ISBN 978-80-7262-702-8.
- [3] FUCHSOVÁ, Radka et al. Deficit vitamínu D. *Medicína po promoci* [online]. 2013, **14**(1), 51 - 5 [cit. 2017-02-10]. Dostupné z: [http://old.fnplzen.cz/asp/oid/odkazy/MPP%201-2013\\_Topol%C4%8Dan.pdf](http://old.fnplzen.cz/asp/oid/odkazy/MPP%201-2013_Topol%C4%8Dan.pdf)
- [4] PALIČKA, Vladimír. Vitamin D a jeho role (nejen) v osteologii. *Interní medicína pro praxi* [online]. 2011, **13**(10), 383 - 387 [cit. 2017-02-08]. Dostupné z: [http://www.internimedicina.cz/artkey/int-201110-0004\\_Vitamin\\_D\\_a\\_jeho\\_role\\_nejen\\_v\\_osteologii.php](http://www.internimedicina.cz/artkey/int-201110-0004_Vitamin_D_a_jeho_role_nejen_v_osteologii.php)
- [5] SOTORNÍK, Ivo a Štěpán KUTÍLEK. *Kostní minerály a skelet při chronickém onemocnění ledvin*. Praha: Galén, 2011, 407 s. ISBN 978-80-7262-769-1.
- [6] BROULÍK, Petr a Karolína BROULÍKOVÁ. Vitamin D v praktické medicíně. *Interní medicína pro praxi* [online]. 2013, **15**(8-9), 256 - 260 [cit. 2017-02-10]. Dostupné z: [http://www.internimedicina.cz/artkey/int-201308-0005\\_Vitamin\\_D\\_v\\_prakticke\\_medicine.php](http://www.internimedicina.cz/artkey/int-201308-0005_Vitamin_D_v_prakticke_medicine.php)
- [7] SORENSON, Marc. *Vitamin D3 a sluneční záření pro optimální zdraví*. Praha: Alternativa, 2008, 290 s. ISBN 978-80-86936-33-8.
- [8] VYSKOČIL, Václav. Vitamin D. *Klinická farmakologie a farmacie* [online]. 2011, **25**(2), 72 - 75 [cit. 2017-02-09]. Dostupné z: [http://www.klinickafarmakologie.cz/artkey/far-201102-0005\\_Vitamin\\_D.php](http://www.klinickafarmakologie.cz/artkey/far-201102-0005_Vitamin_D.php)
- [9] HRDÝ, Petr a Pavel NOVOSAD. Nové poznatky o funkci vitamínu D. *Praktické lékařství* [online]. 2015, **11**(2), 54 - 57 [cit. 2017-02-15]. Dostupné z: <http://www.praktickelekarenstvi.cz/pdfs/lek/2015/02/03.pdf>
- [10] HOSSEIN-NEZHAD, Arash a Michael F. HOLICK. Vitamin D for Health: A Global Perspective. *Mayo Clinic Proceedings* [online]. 2013, **88**(7), 720 - 750 [cit. 2017-04-01]. DOI: 10.1016/j.mayocp.2013.05.011. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0025619613004047>
- [11] SPITZ, Jörg a William B. GRANT. *Rakovinné buňky nemají rády slunce: vitamín D ochranný štít proti rakovině, diabetu a srdečním onemocněním*. Olomouc: ANAG, c2013, 151 s. ISBN 978-80-7263-803-1.

- [12] VÍŠEK, Jakub, Michaela KUBIŠOVÁ, Martina LÁŠTICOVÁ A et. al. Komplexní účinky vitamínu D v lidském organismu. *Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa: Časopis pro postgraduální vzdělávání*. 2012, **15**(4), 258 - 263.
- [13] MATĚJOVSKÁ KUBEŠOVÁ, Hana, Jana TŮMOVÁ, Vlasta POLCAROVÁ a Hana MELUZÍNOVÁ. Vitamin D a frailty. *Interní medicína pro praxi* [online]. 2011, **13**(9), 329 - 333 [cit. 2017-02-15]. Dostupné z: <http://www.internimedica.cz/pdfs/int/2011/09/01.pdf>
- [14] BÁLKOVÁ, Olga. Nedostatek vitamínu D v těhotenství: Význam suplementace a testování vitamínu D u gravidních žen. *Labor Aktuell*. 2015, **15**(03), 8-13. ISSN 1214-7672.
- [15] KOOLMAN, Jan a Klaus-Heinrich RÖHM. *Barevný atlas biochemie*. Praha: Grada, 2012, 498 s. ISBN 978-80-247-2977-0.
- [16] DORT, Jiří. *Metabolismus vápníku, fosforu a vitamínu D a vývoj kostí nedonošených dětí*. V Českých Budějovicích: Jihočeská univerzita, Zdravotně sociální fakulta, 2008, 103 s. ISBN 978-80-7394-109-3.
- [17] ŽOFKOVÁ, Ivana. *Osteologie a kalcium-fosfátový metabolismus: aktuální témata*. Praha: Grada, 2012, 142 s. ISBN 978-80-247-3919-9.
- [18] SLEZÁKOVÁ, Lenka. *Ošetřovatelství v gynekologii a porodnictví*. Praha: Grada, 2011, 269 s. ISBN 978-80-247-3373-9.
- [19] ROZTOČIL, Aleš. *Moderní porodnictví*. Praha: Grada, 2008, 405 s. ISBN 978-80-247-1941-2.
- [20] GREGORA, Martin a Miloš VELEMÍNSKÝ. *Nová kniha o těhotenství a mateřství*. Praha: Grada, 2011, 229 s. ISBN 978-80-247-3081-3.
- [21] ČEPOVÁ, Jana, Marta PECHOVÁ, Eva KLAPKOVÁ a Kateřina DUNOVSKÁ. (Ne)jen vitamin D v graviditě. *Acta medicae: Gynekologie*. 2016, (4), 59 - 61.
- [22] DOSTÁLOVÁ, Zuzana a Romana GERYCHOVÁ. Rizika těhotenství a porodu. *Interní medicína pro praxi*. 2008, **10**(9), 418 - 421.
- [23] BÁLKOVÁ, Olga. Role vitamínu D v těhotenství. *Labor Aktuell*. 2013, **13**(01), 20 - 21. ISSN 1214-7672.
- [24] SOUHRN ÚDAJŮ O PŘÍPRAVKU. In: *O lécích.cz* [online]. 2008 [cit. 2017-02-17]. Dostupné z: <http://www.olecich.cz/modules/medication/detail.php?code=0132941&tab=texts>

- [25] FRIDECKÝ, B. a J. VÁVROVÁ. Současný stav stanovení vitamínu D v séru. *Klinická biochemie a metabolismus* [online]. 2012, **20**(3), 172 - 176 [cit. 2017-02-09]. Dostupné z: <http://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2012/2012-3/KBM12-3-Fr-vitD-174.pdf>
- [26] TOPOLČAN, Ondřej, Radka FUCHSOVÁ a Radek KUČERA. Význam stanovení vitamínu D v rutinní praxi. *In vitro diagnostika* [online]. 2014, **2014**(25), 26 - 28 [cit. 2017-02-10]. Dostupné z: <http://www.beckman.cz/Media/Default/IVD/IVD%202014-25.pdf>
- [27] ARCHITECT 25-OH Vitamin D 5P02, G6-6729/R03, B5P027. Ireland – Abbott Laboratories, 2016
- [28] SWINNEY, Bridget a Tracey ANDERSON. *Výživa v těhotenství: praktický a chutný průvodce prenatální výživou*. Praha: Levné knihy, 2011, 402 s. ISBN 978-80-7309-874-2.
- [29] TROJAN, Stanislav. *Lékařská fyziologie*. Vyd. 4., přeprac. a dopl. Praha: Grada, 2003, 771 s. ISBN 80-247-0512-5.
- [30] Těhotenství a věk. *MUDr. Alexandr Barták: Projevy a stati* [online]. Praha, 2015 [cit. 2017-03-26]. Dostupné z: <http://bartak-alexandr.webnode.cz/news/tehotenstvi-a-vek/>
- [31] SALAS-HUETOS, Albert, Mònica BULLÓ a Jordi SALAS-SALVADÓ. Dietary patterns, foods and nutrients in male fertility parameters and fecundability: a systematic review of observational studies. *Human reproduction update* [online]. 2017 [cit. 2017-03-31]. DOI: 10.1093/humupd/dmx006. Dostupné z: <https://academic.oup.com/humupd/article/3065333/Dietary>
- [32] Porodnost a plodnost za období 2006 až 2010. *Český statistický úřad* [online]. [cit. 2017-03-30]. Dostupné z: <https://www.czso.cz/csu/czso/cri/porodnost-a-plodnost-2006-az-2010-bei2lxvhdf>
- [33] Porodnost a plodnost za období 2011 až 2015. *Český statistický úřad* [online]. 2016 [cit. 2017-04-05]. Dostupné z: <https://www.czso.cz/csu/czso/porodnost-a-plodnost-2011-2015>
- [34] PAFFONI, Alessio, Stefania FERRARI, Paola VIGANÒ a et. al. Vitamin D Deficiency and Infertility: Insights From in vitro Fertilization Cycles. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* [online]. 2014, **99**(11) [cit. 2017-03-31]. DOI: 10.1210 / jc.2014-1802. Dostupné z: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2014-1802>

- [35] LOPES, Vinicius Medina a et. al. Highly prevalence of vitamin D deficiency among Brazilian women of reproductive age. *The Archives of Endocrinology and Metabolism* [online]. 2017, **61**(1), 21 - 27 [cit. 2017-03-24]. ISSN 2359-4292. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1590/2359-3997000000216>
- [36] KOLÁČEK, Jan a Kateřina KONEČNÁ. Jak pracovat s MATLABem. In: *Přírodovědecká fakulta MU: Ústav matematiky a statistiky* [online]. [cit. 2017-04-25]. Dostupné z: <https://www.math.muni.cz/~kolacek/vyuka/vypsyst/navod.pdf>
- [37] Box plot: MATLAB. *MathWorks: Makers of MATLAB and Simulink* [online]. United States, 2017 [cit. 2017-04-26]. Dostupné z: <https://www.mathworks.com/help/stats/boxplot.html>
- [38] Příručka demografické statistiky pro potřebu oblastních statistických orgánů: Metodické publikace. *Český statistický úřad* [online]. c2001 [cit. 2017-04-27]. Dostupné z: <https://web.natur.cuni.cz/~mak/gos/demmethodika/www.czso.cz/cz/cisla/0/02/020100/020100.htm>
- [39] FRIEDECKÝ, B. a J. VÁVROVÁ. Standardizace 25 - hydroxyvitaminu D - VDSP. *FONS: informační Bulletin* [online]. Pardubice, 2014, **24**(4), 18 - 20 [cit. 2017-05-04]. ISSN 1211-7137. Dostupné z: <http://www.bulletinfons.cz/42014/kvalita1.pdf>

## 10 SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Ergokalciferol [4] - upraveno .....	9
Obrázek 2: Cholekalciferol [4] - upraveno .....	9
Obrázek 3: Schéma metabolismu vitamínu D [9].....	10
Obrázek 4: Kalcitriol [29].....	11
Obrázek 5: Schéma hormonální regulace hladiny vápníku [16].....	17
Obrázek 6: Celkový počet naměřených hodnot 25 - OHD u vybraných věkových skupin žen ve fertilním věku .....	33
Obrázek 7: Rozdělení počtu naměřených hodnot 25 - OHD podle hladin 25 - OHD v jednotlivých věkových skupinách žen ve fertilním věku .....	34
Obrázek 8: Histogram naměřených hodnot 25 - OHD u žen ve věkové skupině 18 - 29 let .....	34
Obrázek 9: Histogram naměřených hodnot 25 - OHD u žen ve věkové skupině 30 - 39 let .....	35
Obrázek 10: Histogram naměřených hodnot 25 - OHD u žen ve věkové skupině 40 - 49 let .....	35
Obrázek 11: Srovnání naměřených hodnot 25 - OHD ve věkových skupinách (vytvořeno v matematickém softwaru R).....	36
Obrázek 12: Boxplot (vytvořeno v programu MATLAB) .....	36
Obrázek 13: Počty naměřených hladin 25 - OHD v jednotlivých věkových skupinách žen ve fertilním věku .....	37
Obrázek 14: Procentuelní zastoupení počtu naměřených hladin 25 - OHD v jednotlivých věkových skupinách.....	38
Obrázek 15: Shrnující procentuální zastoupení počtu naměřených hladin 25 - OHD v rozmezí hladin u žen ve fertilním věku .....	38

## 11 SEZNAM POUŽITÝCH TABULEK

Tabulka 1: Rozmezí hladin 25 - OHD .....	15
Tabulka 2: Prenatální a postnatální komplikace pro plod při DM matky [22] .....	21
Tabulka 3: Typy vzorků a odběrových zkumavek [27].....	28
Tabulka 4: Příklady doby centrifugace [27].....	29
Tabulka 5: Souhrnné hodnoty naměřených hladin 25 - OHD u žen ve fertilním věku .....	37
Tabulka 6: Porovnání parametrů od roku 2013 do roku 2016 u žen ve fertilním věku .....	39



## 12 SEZNAM PŘÍLOH

### 12.1 Kód MATLAB

```
clc
close all
clear all

a = dlmread('1sloup.txt');
strArray = java_array('java.lang.String',1);
strArray(1) = java.lang.String('18 - 29 let');
cellArray = cell(strArray);
subplot(1,3,1)
d = boxplot(a,'whisker',7,'widths',0.2,'labels', cellArray)
ylabel('Hladina 25-OHD (nmol/l)');

b = dlmread('2sloup.txt');
strArray2 = java_array('java.lang.String',1);
strArray2(1) = java.lang.String('30 - 39 let');
cellArray2 = cell(strArray2);
subplot(1,3,2)
e = boxplot(b,'whisker',7,'widths',0.2,'labels',cellArray2)
xlabel('Věkové skupiny žen');

c = dlmread('3sloup.txt');
strArray3 = java_array('java.lang.String',1);
strArray3(1) = java.lang.String('40 - 49 let');
cellArray3 = cell(strArray3);
subplot(1,3,3)
f = boxplot(c,'whisker',7,'widths',0.2,'labels',cellArray3)
```