

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2024

Lucie Lichá

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Vitamin D<sub>2</sub> a D<sub>3</sub> v potravinách  
Bakalářská práce

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2023/2024

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Lucie Lichá**  
Osobní číslo: **C22436**  
Studijní program: **B0531A130024 Hodnocení a analýza potravin**  
Téma práce: **Vitamín D2 a D3 v potravinách**  
Téma práce anglicky: **Vitamin D2 and D3 in foods**  
Zadávací katedra: **Katedra analytické chemie**

## Zásady pro vypracování

- Vypracujte souvislé pojednání o vitamínu D2 a D3 (chemická struktura, vlastnosti, potravinové zdroje, funkce v lidském organismu).
- S využitím dostupné odborné literatury zjistěte a porovnejte účinnost obou forem vitamínu. Uveďte přehled analytických metod, které umožňují kvantifikaci každé formy vitamínu zvlášť.
- Na základě zjištěných dat se pokuste určit, zda existují jednoznačné důkazy o tom, že jedna forma vitamínu D je pro člověka výhodnější než druhá.

Rozsah pracovní zprávy:  
Rozsah grafických prací:  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:  
Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Libor Červenka, Ph.D.**  
Katedra analytické chemie

Datum zadání bakalářské práce: **7. února 2024**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2024**

**prof. Ing. Petr Němec, Ph.D.** v.r.  
děkan

L.S.

**doc. Ing. Petr Česla, Ph.D.** v.r.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2024

Prohlašuji:

Práci s názvem Vitamin D<sub>2</sub> a D<sub>3</sub> v potravinách jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

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

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne:

Lucie Lichá

## **PODĚKOVÁNÍ**

Ráda bych v první řadě poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce panu doc. Ing. Liboru Červenkovi, Ph.D. za odborné vedení, ochotu a věcné připomínky, které mi poskytl v průběhu psaní bakalářské práce. Dále mé poděkování patří rodině za jejich podporu a trpělivost během studia.

## **ANOTACE**

V této práci jsou popsány struktura, potravinové zdroje a funkční vlastnosti vitamínu D<sub>2</sub> a D<sub>3</sub> v souvislosti s lidským metabolismem. Přestože mají oba vitamíny v organismu shodnou funkci, významně se liší ve zdrojích, metabolismu, biodostupnosti a účinnosti. S využitím literárních zdrojů bylo zjištěno, že vitamin D<sub>3</sub> byl ve většině případů účinnější ve srovnání s vitaminem D<sub>2</sub>, zejména při zvyšování hladiny aktivní formy vitamínu v séru.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

ergocalciferol, cholecalciferol, metabolismus, výroba, efektivita

## **TITLE**

Vitamin D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub> in foods

## **ANNOTATION**

In this study, the structure, food sources, and functional properties of vitamin D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub> in relation to human metabolism were described. Although both vitamins serve the same function in the organism, they significantly differ in their sources, metabolism, bioavailability, and efficacy. Based on the literature, it has been found that vitamin D<sub>3</sub> is more effective than vitamin D<sub>2</sub> in most cases, especially in increasing the level of the active form of the vitamin in the serum.

## **KEYWORDS**

ergocalciferol, cholecalciferol, metabolism, production, efficiency

## OBSAH

OBSAH.....	8
SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK.....	9
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK .....	10
ÚVOD.....	11
1 Historie.....	13
2 Struktura a vlastnosti .....	14
2.1 Cholecalciferol .....	15
2.2 Ergocalciferol .....	17
3 Zdroje vitamínu D.....	18
3.1 Cholecalciferol.....	18
3.1.1 Výroba Cholecalciferolu.....	21
3.2 Ergocalciferol .....	22
3.2.1 Výroba ergocalciferolu .....	23
4 Osud vitamínu D v gastrointestinálním traktu.....	25
5 Mechanismus vitamínu D .....	26
5.1 Metabolismus cholecalciferolu v kůži.....	27
5.1.1 Faktory ovlivňující produkci vitamínu D <sub>3</sub> v kůži .....	28
5.2 Metabolismus ergocalciferolu .....	29
6 Stanovení vitamínu D <sub>2</sub> a D <sub>3</sub> .....	30
7 Porovnání účinnosti vitamínu D <sub>2</sub> a D <sub>3</sub> .....	31
ZÁVĚR .....	34
POUŽITÁ LITERATURA .....	36

## SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek 1 Ergosterol (provitamin D <sub>2</sub> ) [5] .....	13
Obrázek 2 Označování cyklů a číslování atomů cholestanu [1] .....	15
Obrázek 3 Cholekalciferol (Vitamin D <sub>3</sub> ) [11] .....	16
Obrázek 4 Ergokalciferol (Vitamin D <sub>2</sub> ) [20] .....	17
Obrázek 5 Schéma výroby ergokalciferolu [42] .....	25
Obrázek 6 Metabolismus vitamínu D [1] .....	27
Tabulka 1 Množství vitamínu D <sub>3</sub> v jednotlivých potravinách [25] .....	19

## **SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK**

1,25(OH)<sub>2</sub>D – 1,25-dihydroxyvitamin D

1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>2</sub> – 1,25-dihydroxyergokalciferol, kalcitriol

25(OH)D – 25-hydroxyvitamin D

CYP27B1 – enzym patřící do rodiny cytochromů P450

DBP – vitamin D vázající protein (vitamin D binding protein)

HPLC – Vysoce účinná kapalinová chromatografie

IU – Mezinárodní jednotky (International Units)

LC – kapalinová chromatografie

LC-MS/MS – kapalinová chromatografie spojená s tandemovou spektrometrií

MED – Minimální erytémová dávka (Minimal Erythemal Dose)

SPE – extrakce pevné fáze

SVP – správná výrobní praxe

UV – Ultrafialové záření (Ultraviolet)

UVB – Ultrafialové záření typu B

VDR – vitamin D receptor

## ÚVOD

Vitamin D, životně důležitý nutriční prvek pro zdraví kostí a mnoho dalších fyziologických procesů, existuje ve dvou hlavních formách: ergokalciferol (vitamin D<sub>2</sub>) a cholekalciferol (vitamin D<sub>3</sub>). Tyto formy se liší svým původem, metabolismem a účinností ve fungování lidského těla. Tato bakalářská práce se zaměřuje na porovnání těchto dvou forem vitamínu D s cílem identifikovat jejich relativní výhody a nevýhody ve specifických kontextech a dopady na zdraví.

Vitamin D je esenciální v tučných rozpustný vitamin, který má zásluhu na správném fungování lidského těla, především regulaci vápníku a fosforu. Již v 70. letech 20. století výzkum objevil, že se nejedná pouze o vitamin rozpustný v tučných, nýbrž o fylogeneticky významný velmi starý prekurzor hormonů [1]. Vitamin D je důležitý pro podporu zdraví kostí a zubů. Rovnováhu v kostní tkáni udržuje díky vstřebávání vápníku a fosforu z potravy, a tím přispívá k udržení optimální hustoty kostí, prevenci osteoporózy a dalších onemocnění spojených se ztrátou minerálů z kostí [2].

Mimo své role v metabolismu vápníku a fosforu má vitamin D také významný vliv na imunitní systém. Díky imunomodulačním vlastnostem vitamin D pomáhá v boji proti infekcím tak, že stimuluje tvorbu antimikrobiálních peptidů a podporuje funkci imunitních buněk [3].

Ergokalciferol a cholekalciferol se získávají z různých zdrojů; zatímco vitamin D<sub>2</sub> je převážně rostlinného původu, vitamin D<sub>3</sub> pochází ze živočišných zdrojů a je také syntetizován v kůži pod vlivem slunečního záření. Tyto rozdíly ovlivňují nejen jejich biologickou dostupnost, ale také způsoby, jakými jsou zpracovávány a využívány v těle.

Dalším důležitým aspektem je metabolismus těchto dvou forem vitamínu D. Po absorpci jsou obě formy transformovány v játrech na 25-hydroxyvitamin D, který je následně v ledvinách přeměněn na biologicky aktivní formu, kalcitriol. Tento proces je zásadní pro regulaci různých biologických funkcí, včetně metabolismu minerálů a imunitní reakce.

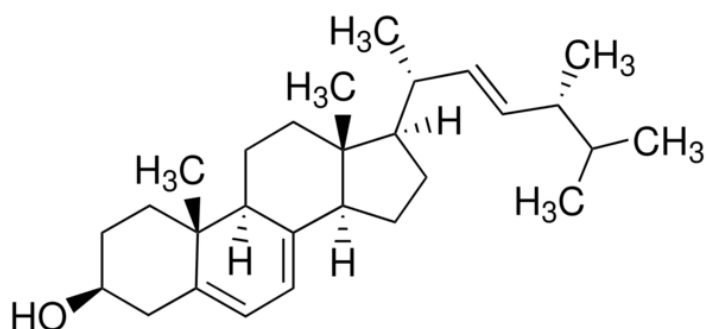
Tato bakalářská práce se zaměřuje na porovnání ergokalciferolu a cholekalciferolu s cílem objasnit jejich rozdíly a potenciální dopady na lidské zdraví. Prostřednictvím komplexní analýzy současné literatury, výzkumných studií a zajištěných materiálů přímo z firmy, kde se vyrábí ergokalciferol, tato práce klade za cíl poskytnout hlubší porozumění tomu, jak tyto dvě formy vitamínu D působí na lidské zdraví a jak mohou být nejlépe využity v praxi.

Celkově práce zdůrazňuje význam správného pochopení obou forem vitamínu D a jejich účinků, což má klíčový význam pro vývoj efektivnějších strategií léčby a prevence onemocnění spojených s nedostatkem vitamínu D. Tento úvod nastiňuje klíčové otázky a cíle práce, které budou dále rozpracovány v následujících kapitolách.

## 1 Historie

Již před více než 1 miliardou let, kdy se začaly vyvíjet první formy života, uměly využívat sluneční světlo jako zdroj energie k tvorbě sacharidů. Některé fytoplanktony nejenže fotosyntetizují glukózu, ale jsou dokonce schopny i produkce vitamínu D<sub>2</sub>. Tento fytoplankton je schopen vytvářet velké množství ergosterolu, výchozí látku pro tvorbu vitamínu D<sub>2</sub>, který při expozici slunečnímu světlu absorbuje ultrafialové záření typu B (UVB) a prochází fotolýzou, díky čemuž vzniká pre-vitamin D<sub>2</sub>. Izomer je termodynamicky nestabilní, proto je ihned transformován na vitamin D<sub>2</sub>. Tento princip se využívá při výrobě vitamínu D<sub>2</sub>, kdy se jako výchozí suroviny využívají kvasinky a houby, které jsou bohaté na vysoké množství ergosterolu.

Přestože funkce ergosterolu a vitamínu D<sub>2</sub> nejsou u těchto primitivních jednobuněčných fotosyntetizujících organismů známy, jsou známé tři různé teorie, které byly navrženy. Ergosterol dokáže účinně absorbovat UVB záření, což by z něj dělalo ideální přírodní ochranu proti UVB záření. Druhou možnou funkcí mohl být fotochemický signál, který by upozorňoval organismus na to, že byl vystaven příliš velkému množství UVB záření a měl by se schovat zpět do hlubin moře. Poslední teorie je založená na struktuře prekursoru provitaminu D, tedy ergosterolu, který je tvořen 4 cykly (viz. Obrázek 1), které jsou zabudované do lipidové dvojvrstvy plazmatické membrány. Při produkci pre-vitamínu D během vystavení slunečnímu UVB záření se cykl „B“ (viz. Obrázek 2) rozpojí a stane se flexibilnější strukturou, což může membráně poskytnout zvýšenou permeabilitu pro různé ionty, včetně vápníku. Toto může být důvod, proč vitamin D zůstal důležitý během evoluce pro udržení metabolismu vápníku [2,4].



Obrázek 1 Ergosterol (provitamin D<sub>2</sub>) [5]

První známky důležitosti slunečního záření pro tvorbu vitamínu D se ukázaly již při průmyslové revoluci, kdy se lidé začali shromažďovat ve městech, kde žili v budovách, které byly postaveny velmi blízko sebe, bez dostatku denního světla. V kombinaci se znečištěným

ovzduším způsobeným pálením tuhých paliv došlo k rozvoji nemoci deformující kosti, kterou známe pod názvem křivice. Tato nemoc postihovala hlavně děti žijící v těchto průmyslových oblastech. Desítky let poté vědci zjistili, že vystavením dětí s tímto onemocněním rtuťové lampě došlo k výraznému zlepšení jejich křivice. Vystavením pouze jedné ruky došlo k radikálnímu zlepšení i u ruky druhé, která nebyla vystavena pod lampou, a proto lékaře napadlo, že je možné, že se v kůži vytváří látka, která vstupuje do oběhu, a tím se zlepšuje celkové zdraví kostí daného jedince. Proto lékaři udělali pokus a vystavili děti s křivicí slunci na střeše nemocnice v New Yorku, čímž došlo k výraznému zlepšení jejich symptomů. Díky tomuto pokusu ovšem přišli na to, že děti s odlišnou barvou kůže jsou náchylnější k mnohem většímu riziku, protože potřebují delší vystavení slunečnímu záření k léčbě i prevenci tohoto onemocnění.

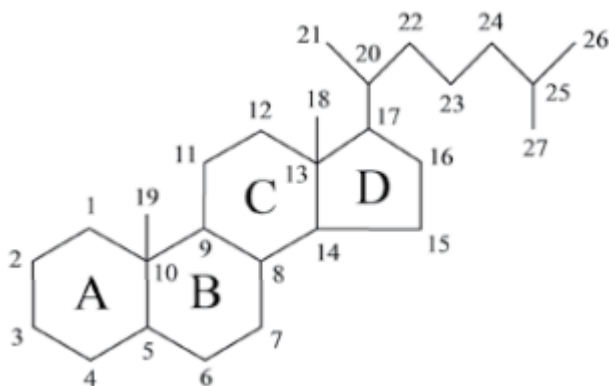
Díky těmto objevům pánové Steenbock, Black a Hess, Winstock ozářili širokou škálu látek, mezi kterými byly například rostlinné oleje a mléko, u kterých se následně prokázal antirachitický účinek. Toto zjištění vedlo k zavedení obohacování mléka synteticky vyráběným vitamínem D<sub>2</sub>. Právě díky tomuto obohacování došlo v některých zemích k vymýcení křivice. V 30. letech 20. století se stal vitamín D synonymem pro zdraví a začala se jím tak obohacovat škála potravin včetně burákového másla, limonád, chleba, ale dokonce i piva nebo třeba mýdla a pěny na holení. Bohužel po druhé světové válce nebylo obohacování potravin vitamínem D dostatečně monitorováno a došlo tak k vypuknutí epidemie intoxikace vitamínem D mezi novorozenci a malými dětmi. V reakci na tuto událost byla fortifikace mléčných produktů vitamínem D zakázána ve většině zemí Evropy a tento zákaz trvá až doposud. Dnes se v Evropě můžeme s přídatkem vitamínu D setkat pouze v margarínech a některých cereáliích [2, 6, 7, 8].

## **2 Struktura a vlastnosti**

Pojem vitamín D odkazuje na skupinu sloučenin odvozených od cholesterolu. Hlavními formami vitamínu D jsou ergokalciferol neboli vitamín D<sub>2</sub>, který nalezneme v rostlinách, a vitamín D<sub>3</sub> známý také jako cholekalciferol, který nalezneme v živočišných tkáních. Obě tyto sloučeniny jsou neaktivní prekurzory silných metabolitů, a proto spadají do skupiny kterou nazýváme prohormony [9].

Hlavním rozdílem mezi těmito dvěma formami je methylová skupina a dvojná vazba, kterou má navíc ergokalciferol v postranním řetězci oproti cholekalciferolu. Metabolismus obou látek je podobný, proto se často o těchto sloučeninách mluví souhrnně jako o vitamínu D [1].

Chemicky se jedná o sekosteroid, což jsou steroidy, u kterých je jeden z cyklů cyklopentanoperhydrofenantrenového skeletu neuzavřený, v tomto případě je to kruh „B“, jak můžeme vidět na obrázku struktury cholestanu níže (Obrázek 2) [10].



Obrázek 2 Označování cyklů a číslování atomů cholestanu [1]

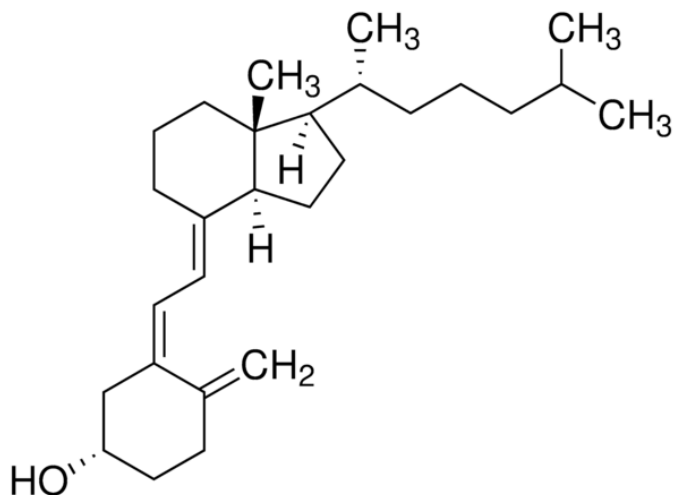
Působením UV záření vznikají z prekurzorů, které nazýváme provitaminy D, vitaminy D.

7-dehydrocholesterol je provitamin cholekalciferolu a ergosterol je provitamin pro ergokalciferol, jak již vyplývá z názvu. Tyto provitaminy, jak již bylo řečeno, jsou cyklopentanoperhydrofenantreny s C-18 a C-19 methylovými skupinami, C-3 hydroxylovou skupinou a C-5(6), C-7(8) systémem konjugovaných dvojných vazeb v kruhu B, které se vzájemně liší délkou a uspořádáním postranního řetězce v poloze C-17 [11].

Čistý cholekalciferol a ergokalciferol jsou bílé práškové formy velmi jednoduše rozpustné v chloroformu, snadno rozpustné v etanolu, éteru, cyklohexanu a acetonu.

## 2.1 Cholekalciferol

Cholekalciferol (Obrázek 3) nebo také vitamin D<sub>3</sub> s chemickým vzorcem (9,10-seko- $\Delta$ 10(19),5,7 -dehydrocholestatrien-3 $\beta$ -ol), sumárním vzorcem C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O a molekulovou hmotností 384,6 g/mol vzniká v kůži při pobytu na slunci z provitaminu 7-dehydrocholesterolu [11].



Obrázek 3 Cholekalciferol (Vitamin D<sub>3</sub>) [11]

Tato molekula je lipofilní, což znamená, že je rozpustná v tucích, a to jí umožňuje snadno se začlenit do buněčných membrán a ukládat se v tukových tkáních [12].

Cholekalciferol hraje klíčovou roli v udržení zdraví kostí. Jeho hlavní funkcí je udržování správné hladiny vápníku a fosforu v krvi, což je nezbytné pro normální mineralizaci kostí a prevenci hypokalcemie. Nedostatek vitamínu D může vést k osteomalacii u dospělých a křivici u dětí, což jsou onemocnění charakterizovaná měknutím kostí [13].

Kromě svého vlivu na kosti má cholekalciferol také imunomodulační vlastnosti. Aktivní forma vitamínu D, 1,25(OH)<sub>2</sub>D, je schopna modulovat imunitní odpověď tím, že ovlivňuje aktivitu T-lymfocytů a produkci cytokininů. Toto je důležité pro prevenci autoimunitních onemocnění a podporu obranyschopnosti organismu proti infekcím [14].

Cholekalciferol také hraje roli v prevenci chronických onemocnění. Studie ukázaly, že dostatečné hladiny vitamínu D jsou spojeny s nižším rizikem vývoje kardiovaskulárních chorob, diabetu typu 2 a některých druhů rakoviny, včetně rakoviny tlustého střeva a prsu [15].

Doporučená denní dávka vitamínu D<sub>3</sub> se liší v závislosti na věku, pohlaví a zdravotním stavu. Obecně se doporučuje příjem 600-800 IU denně pro dospělé, zatímco starší dospělí mohou potřebovat vyšší dávky kvůli snížené schopnosti syntetizovat vitamin D v kůži [16].

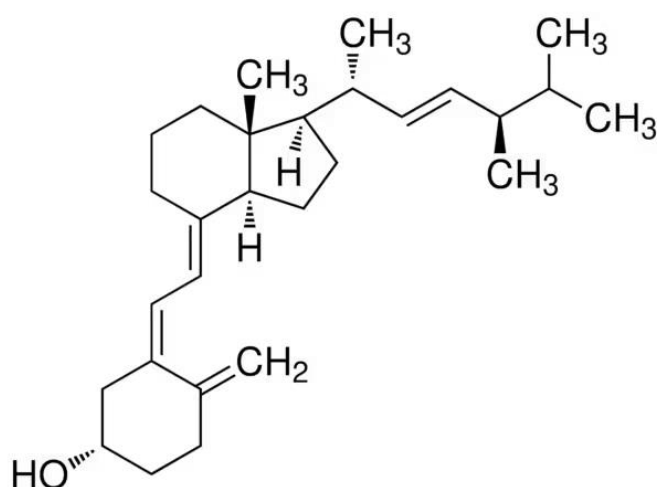
Přestože je vitamin D<sub>3</sub> nezbytný pro zdraví, nadměrný příjem může vést k toxicitě. Hypervitaminóza D se vyznačuje hyperkalcémií, která může způsobit nevolnost, zvracení, slabost a závažné komplikace, jako je poškození ledvin. Toxicita je obvykle výsledkem dlouhodobého užívání vysokých dávek vitamínu D<sub>3</sub>, často přesahujících 10 000 IU denně [17].

Cholekalciferol má široké klinické využití, zejména v prevenci a léčbě osteoporózy a dalších kostních onemocnění. Vitamin D<sub>3</sub> je také používán jako doplněk stravy pro zlepšení imunitní funkce a prevenci chronických onemocnění. Lékaři často doporučují suplementaci vitaminem D<sub>3</sub> u pacientů s nízkými hladinami 25(OH)D, zejména u starších dospělých, kojenců a osob s omezeným vystavením slunečnímu záření [15].

Podle studie publikované v *The American Journal of Clinical Nutrition* je suplementace vitaminem D<sub>3</sub> efektivní při zvyšování hladin 25(OH)D v krvi a zlepšování zdraví kostí u starších žen s osteoporózou [18]. Další výzkum publikovaný v *Journal of Endocrinology and Metabolism* ukázal, že vitamin D<sub>3</sub> může hrát roli v prevenci a léčbě autoimunitních onemocnění, jako je roztroušená skleróza a revmatoidní artritida [19].

## 2.2 Ergokalciferol

Ergokalciferol, označován také jako vitamin D<sub>2</sub>, chemicky 9,10-seko-10 $\Delta$ 10(19),5,7,22 – ergostatetraen-3 $\beta$ -ol, sumárním vzorcem C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O s molekulovou hmotností 396,6 g/mol, má rostlinný původ a je synteticky vyráběn ozařováním ergosterolu UVB zářením [11]. Jeho chemickou strukturu můžeme vidět na Obrázku 4.



Obrázek 4 Ergokalciferol (Vitamin D<sub>2</sub>) [20]

Ergokalciferol je primárně získáván z rostlinných a houbových zdrojů a má několik specifických chemických a biologických vlastností, které jej odlišují od cholekalciferolu.

Ergokalciferol je secosteroid, což znamená, že má strukturu steroidu, ale s jedním otevřeným kruhem. Je syntetizován z ergosterolu, což je sterol nacházející se v buněčných membránách hub a rostlin. Při expozici ultrafialovému záření typu B (UVB) se ergosterol přeměňuje na pre-

vitamin D<sub>2</sub>, který se následně izomerizuje na ergokalciferol. Chemická struktura ergokalciferolu zahrnuje tři cyklické struktury a otevřený postranní řetězec, což ji činí podobnou struktuře cholekalciferolu, avšak s několika klíčovými rozdíly. Rozdíl v chemické struktuře mezi ergokalciferolem a cholekalciferolem spočívá v jejich bočních řetězcích. Ergokalciferol obsahuje dvojnou vazbu mezi uhlíky C22 a C23 a methyl skupinu na C24, zatímco cholekalciferol má jednoduchou vazbu v této oblasti a místo methyl skupiny na C24 má jen vodík [21].

Ergokalciferol je, stejně jako cholekalciferol, lipofilní molekula, což znamená, že je rozpustný v tucích, což mu umožňuje snadno se začlenit do buněčných membrán a ukládat se v tukových tkáních [12].

Co se týče ergokalciferolu v lidském organismu, jeho funkce jsou stejné jako u cholekalciferolu. Hraje klíčovou roli v udržování zdraví kostí, udržuje správnou hladinu vápníku a fosforu v krvi a jeho nedostatek může vést k osteomalacii u dospělých a křivici u dětí. [13]. Stejně tak má i imunomodulační vlastnosti a vliv na prevenci chronických onemocnění.

### **3 Zdroje vitamínu D**

#### **3.1 Cholekalciferol**

Bohužel získat dostatečné množství vitamínu D z plnohodnotné stravy je celkem obtížné právě kvůli tomu, že se přirozeně nachází pouze v malém množství potravin. Největší množství vitamínu D se nachází v oleji z rybích jater některých typů tučných ryb, jako je například halibut, losos, makrela, sardinky, tuňák a další mořské ryby. I maso těchto ryb je cenným zdrojem vitamínu D. Například 100 gramů lososa může obsahovat až 988 IU vitamínu D<sub>3</sub>, což je více než doporučená denní dávka [22]. Studie publikovaná v *American Journal of Clinical Nutrition* zjistila, že konzumace mastných ryb dvakrát týdně může významně zvýšit hladiny 25-hydroxyvitamínu D v krvi, což je hlavní marker statusu vitamínu D [23].

Významné množství cholekalciferolu se nachází také ve vaječném žloutku. Jedno velké vejce může obsahovat přibližně 41 IU vitamínu D<sub>3</sub>, což představuje významný přínos k dennímu příjmu tohoto vitamínu [22, 24].

V menší míře se vitamin nachází i v mase, vnitřnostech hospodářských zvířat, anebo jiných živočišných produktech jako je třeba mléko. U těchto živočišných zdrojů obsah vitamínu D<sub>3</sub>

závisí na ročním období, vzhledem k množství denního světla se v letním období množství cholekalciferolu může zvýšit až čtyřikrát.

Cholekalciferol se u savců, ryb a ptáků vyskytuje přirozeně proto, že tito živočichové jsou schopni syntézy cholekalciferolu stejně tak jako člověk [22].

Jak můžeme vidět v Tabulce 1 níže, kde jsou pro představu vypsány přesné hodnoty některých potravin, hlavně ryb, množství vitamínu D<sub>3</sub> z potravin je opravdu malé a suplementace je tudíž více než potřebná pro většinu populace v našich končinách [25].

*Tabulka 1 Množství vitamínu D<sub>3</sub> v jednotlivých potravinách [25]*

<b>Potravina</b>	<b>Množství vitamínu D<sub>3</sub> v ug</b>	<b>Množství v IU</b>	<b>Množství potraviny</b>
Tresčí olej	500	20 000	100 ml
Losos, sled' nebo tuňák	15–25	600–1 000	100 g
Sardinky v oleji	7,5	300	100 g
Ústřice	10	400	100 g
Pstruh	5	200	100 g
Štika	2	80	100 g
Gouda sýr	N/A <sup>1</sup>	5	100 g
Mléko plnotučné	N/A <sup>1</sup>	50	100 ml
Vejce žloutek	2-3	80–120	100 g

Hlavní zdroj vitamínu D pro lidskou populaci je však tvořen v kůži díky ultrafialovému světlu slunečního záření. Naše kůže totiž obsahuje 5,7-diene sterol, meziproduct syntézy cholesterolu [26]. Když je pokožka vystavena ultrafialovému záření typu B (UVB), 7-dehydrocholesterol v kůži se přeměňuje na pre-vitamin D<sub>3</sub>, který se následně izomerizuje na cholekalciferol. Tento

<sup>1</sup> N/A – data nejsou k dispozici

proces je nejefektivnější při expozici slunečnímu záření mezi 10. a 15. hodinou, kdy je UVB záření nejintenzivnější [21].

U novorozenců, kteří jsou kojeni mateřským mlékem, je hlavní zdroj vitamínu D právě mateřské mléko. Toto mléko obsahuje přibližně 20IU vitamínu D<sub>3</sub> na litr. Ovšem mateřské mléko žen, které samy trpí nedostatkem vitamínu D, obsahuje vitamínu D ještě méně. Ve studii, kdy bylo kojícím ženám podáváno 4000IU vitamínu D<sub>3</sub> denně, bylo dokázáno, že ženám stoupla jak hladina 25-hydroxyvitamínu D na více než 30 ng na mililitr, tak také byly schopné přenést dostatečné množství vitamínu D<sub>3</sub> do svého mléka tak, aby pokryly denní potřeby kojence. Proto se nyní doporučuje novorozencům podávat suplementaci vitamínu D<sub>3</sub> pomocí kapek [21]. U nás v České republice je Českou pediatrickou společností doporučeno podávat množství 400 IU denně novorozencům a kojencům od 2. týdne věku až po jeden rok ve formě kapek, často používaným produktem je například Vigantol.

Studie publikovaná v *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* ukázala, že vystavení paží a nohou slunečnímu záření po dobu 5-30 minut dvakrát týdně může vést k dostatečné syntéze vitamínu D<sub>3</sub> [27]. Nicméně, množství syntetizovaného cholekalciferolu závisí na několika faktorech, jako je například zeměpisná šířka, roční doba, typ pokožky a použití opalovacích krémů.

Fortifikace potravin je dalším významným zdrojem cholekalciferolu, zejména pro osoby, které mají omezený přístup ke slunečnímu záření nebo nekonzumují dostatek ryb. Mléčné výrobky, rostlinné mléčné náhražky, cereálie, džusy a margaríny jsou často fortifikovány vitamínem D<sub>3</sub>, což zvyšuje jejich nutriční hodnotu. [28].

Studie publikovaná v *Journal of Nutrition* ukázala, že pravidelná konzumace fortifikovaných mléčných výrobků může významně přispět k celkovému příjmu vitamínu D<sub>3</sub> a zlepšit hladiny 25-hydroxyvitamínu D v krvi [29]. Podobně studie publikovaná v *European Journal of Clinical Nutrition* zjistila, že fortifikace rostlinných mléčných náhražek vitamínem D<sub>3</sub> je účinná při zvyšování hladin vitamínu D u vegetariánů a veganů [30].

Doplňky stravy jsou často doporučovány pro osoby, které mají nízký příjem vitamínu D z potravy nebo nedostatečné vystavení slunečnímu záření, což je typické pro naše podmínky střední Evropy hlavně v zimních měsících. Doplnky stravy s cholekalciferolem jsou běžně dostupné ve formě tablet, kapslí nebo kapek.

### 3.1.1 Výroba Cholekalciferolu

Výroba cholekalciferolu je složitý proces, který se skládá z několika kroků, od získávání surovin, přes chemické reakce až po technologické postupy. Zjednodušeně můžeme říci, že tento proces začíná u lanolinu, nacházejícího se v ovčí vlně, a pokračuje jeho přeměnou na cholekalciferol díky UVB záření.

Nejprve musíme začít sběrem suroviny, tedy lanolinu, který se získává z ovčí vlny. Lanolin je přírodní voskovitá látka, která je produkována mazovými žlázami ovce, proto aby ovce byly schopny ochránit svou vlnu a pokožku před vlhkostí. Po ostříhání ovce se vlna zpracuje a lanolin se z ní extrahuje. Tento proces obsahuje několik kroků, které zahrnují praní, odstředování a rafinaci, díky čemuž získáme čistý lanolin [31].

Extrakce lanolinu z ovčí vlny začíná praním vlny v teplé vodě s detergenty, aby se odstranily nečistoty a tuky. Po vyprání je vlna odstředěna, aby se oddělila voda a lanolin. Lanolin se poté rafinuje prostřednictvím několika stupňů čištění, včetně filtrace a destilace, aby se odstranily nežádoucí nečistoty a dosáhla se požadovaná čistota. Výsledný produkt je čistý lanolin, který je připraven k dalšímu zpracování [32].

Lanolin obsahuje několik sterolů, z nichž nejdůležitější je 7-dehydrocholesterol, prekurzor cholekalciferolu. Následný proces zahrnuje extrakci 7-dehydrocholesterolu z lanolinu prostřednictvím chemických a fyzikálních metod. Jedním z hlavních kroků je hydrolýza [33].

Přeměna 7-dehydrocholesterolu na cholekalciferol je klíčovým krokem ve výrobě vitamínu D<sub>3</sub>. Tento proces zahrnuje vystavení 7-dehydrocholesterolu ultrafialovému záření typu B (UVB) při specifických vlnových délkách, obvykle kolem 280–315 nm. UVB záření způsobuje fotochemickou reakci známou jako fotolýza, při které dochází k rozštěpení prstence B 7-dehydrocholesterolu. Tato reakce vede k tvorbě pre-vitamínu D<sub>3</sub>, což je termodynamicky nestabilní izomer [1].

Pre-vitamin D<sub>3</sub> se spontánně izomerizuje na cholekalciferol při pokojové teplotě nebo při mírném zahřátí. Tento proces je relativně rychlý a účinný, což umožňuje efektivní produkci cholekalciferolu. Fotolýza a následná izomerizace jsou pečlivě kontrolovány, aby se zajistila vysoká kvalita a čistota výsledného produktu.

Po přeměně 7-dehydrocholesterolu na cholekalciferol je výsledná směs podrobena dalším čistícím krokům. Tyto kroky jsou nezbytné k odstranění nežádoucích vedlejších produktů a k získání čistého cholekalciferolu. Po dokončení purifikace je čistý cholekalciferol připraven k formulaci a dalšímu použití [18].

Cholekalciferol je citlivý na světlo, teplo a oxidaci, což může vést k jeho degradaci a ztrátě účinnosti. Proto je nutné cholekalciferol stabilizovat přidáním antioxidantů, jako je butylhydroxyanisol (BHA), butylhydroxytoluen (BHT) nebo tokoferol. Tyto látky chrání cholekalciferol před oxidací a prodlužují jeho trvanlivost [34].

Stabilizovaný cholekalciferol je poté formulován do různých forem, které jsou vhodné pro konzumaci. Mezi nejčastější formy patří kapsle, tablety a kapalné doplňky stravy. Cholekalciferol může být také přidáván do potravin, jako jsou mléčné výrobky, margaríny a cereálie. Při formulaci je důležité zajistit rovnoměrné rozptýlení cholekalciferolu v celém produktu, aby byla zajištěna konzistentní dávka [35].

Výroba cholekalciferolu zahrnuje přísné kontrolní mechanismy, aby byla zajištěna kvalita a bezpečnost konečného produktu. Typicky je výroba v režimu SVP, tedy správné výrobní praxe, jelikož je tento produkt brán jako aktivní farmaceutická substance, a dochází tedy k pravidelné kontrole státními orgány. Každá výrobní šarže musí být testována, podle daných specifikací, na obsah cholekalciferolu, čistotu, přítomnost nečistot a mikrobiologickou kontaminaci. Tyto testy jsou prováděny pomocí metod, jako je HPLC, UV spektroskopie a mikrobiologické testování [36].

Kvalitativní kontrola je nezbytná pro splnění všech předpisů a standardů kvality. Výrobci cholekalciferolu musí dodržovat normy stanovené mezinárodními organizacemi, jako je český Státní ústav pro kontrolu léčiv, tedy zkráceně SÚKL, ale také podle trhu, kam je daný produkt prodáván. Může docházet i ke kontrole orgány jiných států, například FDA (Food and Drug Administration) pro americký trh a EFSA (European Food Safety Authority) pro evropský trh. Kromě toho jsou pravidelně prováděny audity a inspekce, které zajišťují dodržování všech předpisů a zaručují, že konečný produkt je bezpečný a účinný [37].

Díky technologickému pokroku a výzkumu jsou dnes k dispozici vysoce účinné a bezpečné metody výroby cholekalciferolu. Tyto metody umožňují produkci velkého množství cholekalciferolu s vysokou čistotou a stabilitou, což zajišťuje jeho dostupnost pro spotřebitele po celém světě [38].

### **3.2 Ergokalciferol**

Ergokalciferol se nachází u potravin rostlinného původu, kde ho nalezneme v semenech olejnin, cereálních výrobcích a také v obilninách, kde indikuje mikrobiální kontaminaci. Prekurzory vitamínu D nalezneme i v zelenině, například u špenátu a zelí, kde je obsah přibližně 0,1 µg/kg.

Díky tomu, že ergosterol je hlavní sterol u většiny plísní, můžeme jeho obsah najít i u většiny plísňových sýrů.

Vyšší houby (*Basidiomycetes*) disponují významným obsahem ergosterolu, a proto díky působení slunečního záření za vzniku ergocalciferolu jsou jeho významným zdrojem. Mechanismus vzniku je zde stejný jako u cholecalciferolu. Proto u hub rostoucích přirozeně v lese je obsah ergocalciferolu přirozeně vyšší, než u hub pěstovaných komerčně, jako jsou například žampiony. Klimatické podmínky, barva třeně houby a další množství faktorů ovlivňují obsah ergocalciferolu v houbách, kde jeho množství představuje přibližně 90 %. Stopové množství tvoří 25-hydroxyergocalciferol, a zbytek previtamin D<sub>2</sub>.

Významné množství ergosterolu se nachází také v kvasinkách (*Saccharomyces cerevisiae*), kde se obsah veškerého ergosterolu pohybuje v mezích od 600 do 1500 µg/kg v sušině. Tyto kvasinky jsou v potravinářském průmyslu důležité zejména pro výrobu piva a kynutého pečiva [11].

Studie publikovaná v časopise *Food Chemistry* zjistila, že vystavení hub shiitake UV záření po dobu 30 minut zvýšilo jejich obsah vitamínu D<sub>2</sub> na 46,1 µg/100 g [38]. Další výzkum publikovaný v *Journal of Agricultural and Food Chemistry* prokázal, že houby vystavené UVB záření mohou poskytnout významné množství vitamínu D<sub>2</sub>, což potvrzuje jejich potenciál jako zdroje ergocalciferolu v lidské stravě [40].

Stejně jako cholecalciferol se i ergocalciferol využívá k fortifikaci potravin. Vitamin D<sub>2</sub> má dokonce tu výhodu, že díky svému rostlinnému původu je vhodný zejména pro vegany a vegetariány, u kterých může dojít k významnému nedostatku vitamínu D.

Studie publikovaná v *American Journal of Clinical Nutrition* ukázala, že fortifikace pomerančového džusu vitamínem D<sub>2</sub> byla stejně účinná jako fortifikace vitamínem D<sub>3</sub> při zvyšování hladin 25-hydroxyvitamínu D v krvi dospělých osob. Tato zjištění potvrzují, že fortifikace potravin je účinným způsobem, jak zvýšit příjem vitamínu D<sub>2</sub> v populaci [41].

### **3.2.1 Výroba ergocalciferolu**

Stejně jako výroba cholecalciferolu, tak i výroba ergocalciferolu je složitý proces, kde dochází k mnoha chemickým přeměnám a využití složitých technologií.

Proces výroby ergocalciferolu začíná u ergosterolu, prekursoru vitamínu D<sub>2</sub> nacházejícího se v kvasinkách a houbách, a pokračuje jeho přeměnou na ergocalciferol prostřednictvím UVB záření.

Primárním zdrojem ergosterolu, který je prekurzorem ergokalciferolu, jsou kvasinky a houby. Kvasinky, jako *Saccharomyces cerevisiae*, a houby, jako je shiitake (*Lentinula edodes*), jsou bohaté na ergosterol. Tyto organismy se pěstují ve velkém měřítku na vhodných živných médiích. Proces pěstování zahrnuje kontrolu teploty, pH a dalších růstových podmínek, aby byla zajištěna optimální produkce ergosterolu. Kultivace kvasinek a hub probíhá ve fermentačních nádobách, kde se pravidelně monitoruje růst a produkce ergosterolu. Po dosažení optimální koncentrace ergosterolu je biomasa sklizena a následuje další zpracování [31].

Po kultivaci je biomasa kvasinek nebo hub podrobena procesu extrakce, aby se izoloval ergosterol. Biomasa je nejprve dehydratována, což znamená, že je odstraněna většina vody, čímž se zvyšuje koncentrace ergosterolu. Následně je biomasa zpracována organickými rozpouštědly, jako je etanol, hexan nebo chloroform, které mají schopnost rozpouštět ergosterol. Tento proces zahrnuje míchání biomasy s rozpouštědlem, což umožňuje ergosterolu přejít do kapalné fáze. Poté je směs filtrována, aby se odstranily pevné částice. Extrakce je často opakována několikrát, aby se maximalizovala výtěžnost ergosterolu [32].

Po extrakci následuje proces destilace, který slouží k oddělení ergosterolu od rozpouštědla a dalších nečistot. Destilace využívá rozdílných bodů varu jednotlivých složek, což umožňuje jejich separaci. Výsledným produktem je koncentrovaný ergosterol, který je připraven k dalšímu zpracování [33].

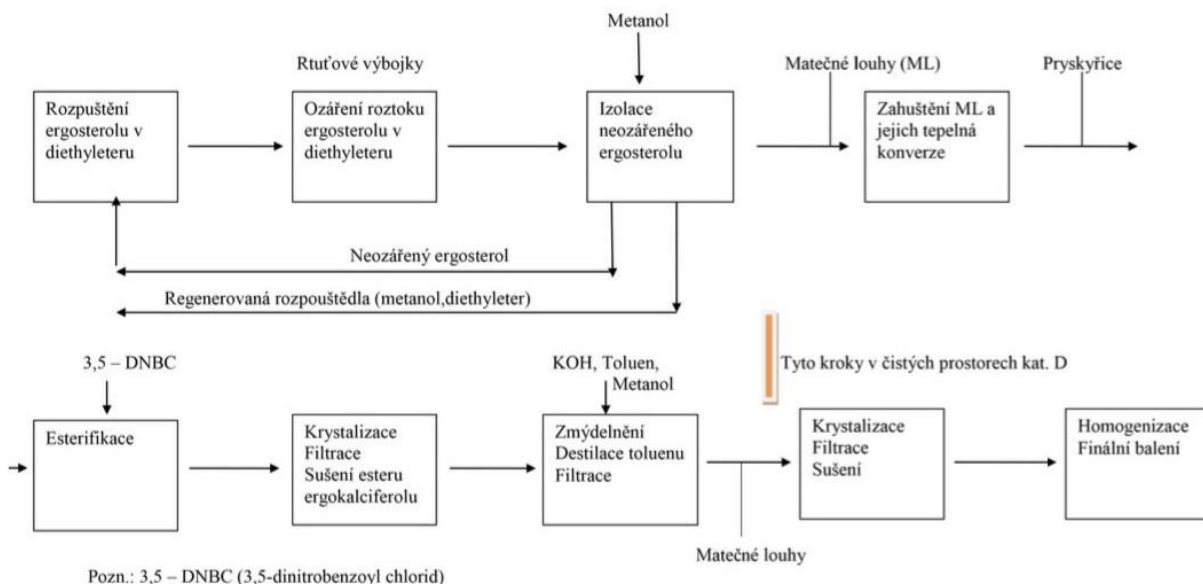
Synthesia, a.s., nacházející se v Pardubicích, je významným světovým a jediným evropským producentem vitamínu D<sub>2</sub> na evropském trhu. Výroba vitamínu D<sub>2</sub> je zde velmi sofistikovaným procesem, který začíná použitím ergosterolu jako suroviny. Ergosterol se nejprve rozpustí v diethyletheru a následně je tento roztok ozářen rtuťovými výbojkami. Tento krok simuluje fotochemickou přeměnu, ke které dochází v přírodě.

Po ozáření se izoluje neozářený ergosterol pomocí promytí metanolem. Tento neozářený ergosterol se regeneruje a znovu používá, čímž se zvyšuje výtěžnost procesu. Poté se matečné louhy po ozáření zahušťují a podrobují tepelné konverzi. Následuje esterifikace a další čisticí kroky, jako je krystalizace a filtrace. Ester ergokalciferolu se suší a poté následuje zmýdelnění. Tento proces vede ke vzniku matečného louhu, který krystalizuje v čistých prostorech kategorie D, čímž se získává čistý ergokalciferol.

Ve finální fázi je ergokalciferol podroben filtraci a sušení. Finální krok homogenizace slouží k zajištění většího objemu produktu pro zákazníky. Výsledný produkt, bílý krystalický prášek, se balí do plechovek a expeduje k zákazníkům.

Celý tento proces probíhá za dodržení přísných podmínek farmaceutické výroby, aby byla zajištěna dostatečná kvalita pro koncového zákazníka. [42]

## Výroba vitamínu D2



Obrázek 5 Schéma výroby ergokalciferolu [42]

## 4 Osud vitamínu D v gastrointestinálním traktu

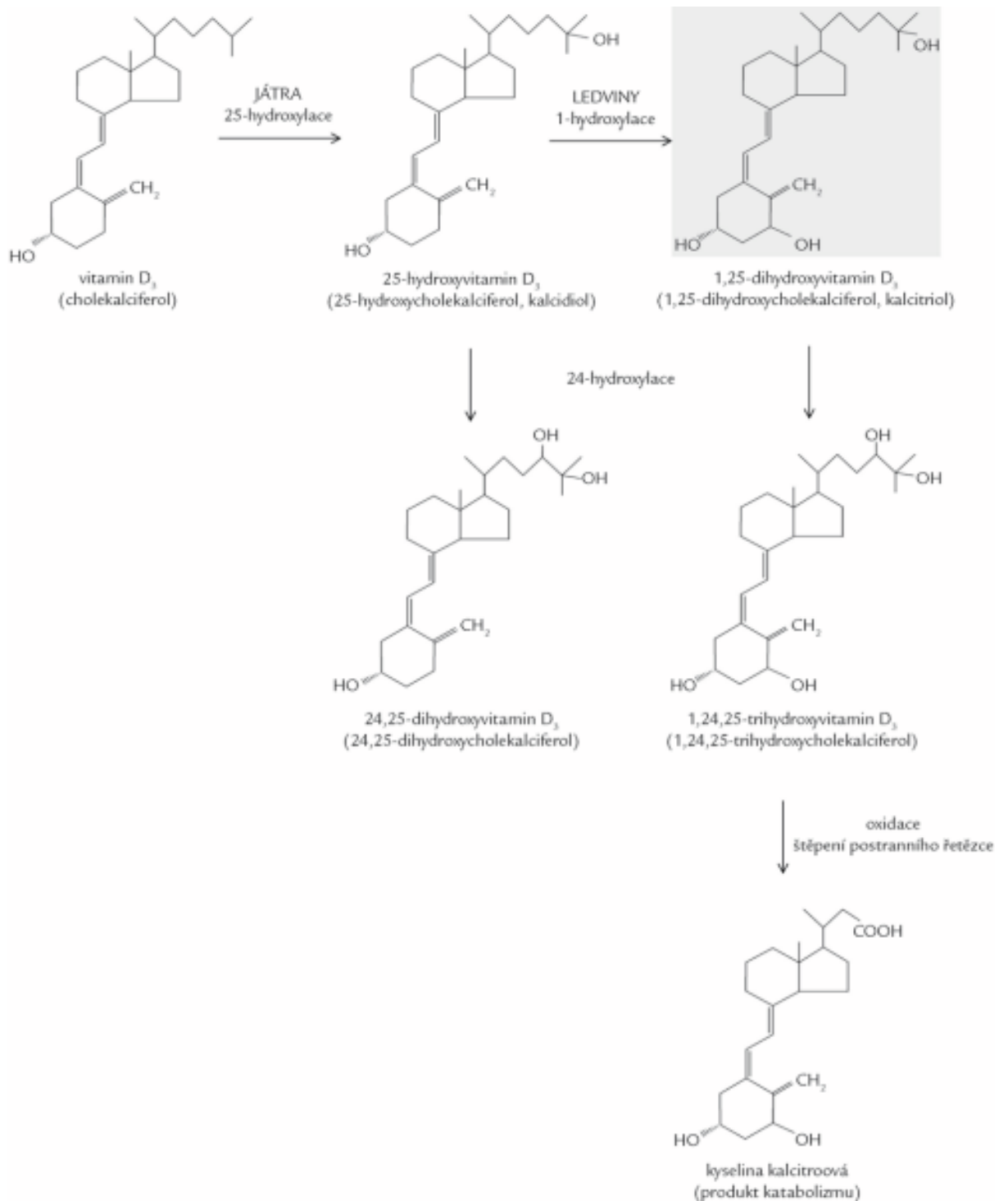
Osud vitamínu D v gastrointestinálním traktu se skládá z několika fyzikálně chemických a enzymatických dějů. Předpokládáme, že absorpce vitamínu D je řízena stejnými faktory jako ty, které byly popsány pro lipidy – triacylglyceroly, cholesterol a fosfolipidy. Tyto faktory zahrnují emulgaci, difúzi přes nemísitelnou vodní vrstvu, permeaci přes membránu enterocytů a solubilizaci ve směsných micelách [43].

Již v žaludku, kde dochází k natrávení potravin žaludečními enzymy a kyselinami, začíná metabolismus vitamínu D. Můžeme předpokládat, že pepsin hraje roli v absorpci vitamínu D díky uvolnění frakce vitamínu D, která je spojena s proteiny. Vzhledem k tomu, že vitamin D je vitamin rozpustný v tucích, lze předpokládat, že jeho vstřebávání z potravy je ovlivněno množstvím tuků přijatých v potravě a nutriční skladbě daného pokrmu. Ve dvanáctníku, kde se nachází trávicí enzymy jako je proteáza, lipáza a amyláza, pokračuje uvolňování vitamínu D z potravy [43].

## 5 Mechanismus vitamínu D

Ergocalciferol i cholecalciferol jsou biologicky neaktivní formy a je u nich vyžadována aktivace dvěma kroky. Zaprvé je to hydroxylace v játrech a za druhé následuje hydroxylace v ledvinách. V prvním kroku, tedy hydroxylaci v játrech, dochází k hydroxylaci na uhlíku C25 za vzniku 25-hydroxyvitaminu D neboli kalcidiolu, zkráceně můžeme psát i 25(OH)D. V ledvinách, kde dochází k druhé hydroxylaci, se 25-hydroxyvitamin vzniklý v játrech hydroxyluje na uhlíku C1 a vznikne tak 1,25-dihydroxyvitamin D, jinak také kalcitriol, což je hormonálně aktivní forma, která řídí biologické funkce vitamínu D [44].

Na Obrázku č. 6 můžeme vidět hydroxylaci která vede k aktivaci a reakci katabolismu, která zase vede k inaktivním produktům.



Obrázek 6 Metabolismus vitaminu D [1]

### 5.1 Metabolismus cholecalciferolu v kůži

Jak již víme, cholecalciferol, přirozená forma vitaminu D<sub>3</sub>, je produkován v kůži ze 7-dehydrocholesterolu. Po ozáření slunečním světlem se 7-dehydrocholesterol v kůži přemění na pre-vitamin D<sub>3</sub>, který musí projít teplotně sensitivním přeskupením třech dvojných vazeb za vzniku vitaminu D<sub>3</sub>. Takto vzniklý vitamin D<sub>3</sub> je následně transportován krví do jater za pomoci

vitamin D vázajícímu proteinu, zkráceně DBP (z angličtiny vitamin D-binding protein), který na sebe váže vitamin D a jeho metabolity v séru. V játrech následně dochází k hydroxylaci na uhlíku C-25 za vzniku 25-hydroxyvitaminu D<sub>3</sub>, neboli zkráceně 25(OH)D<sub>3</sub>. To je hlavní cirkulující forma vitaminu D<sub>3</sub> v krvi. Koncentrace této formy vitaminu D<sub>3</sub> nám slouží jako významný biomarker pro zjištění hladiny cholecalciferolu v krvi. 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> je následně transportován pomocí DBP do ledvin, kde dochází k filtraci glomeruly. Poté dochází k hydroxylaci 25(OH)D<sub>3</sub> na C-1 kruhu A v proximálním renálním tubulu, což zapříčiňuje tvorbu 1 $\alpha$ -25-hydroxyvitamin D, zkráceně také 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, což je funkční, hormonálně aktivní metabolit vitaminu D<sub>3</sub>, a je zodpovědný za skoro všechny biologické účinky vitaminu D [45].

Otázkou, která často vyvstává, je, zda je možné se při delším pobytu na slunci předávkovat vitaminem D. Není to možné, tělo má přirozený mechanismus regulace vitaminu D, který zamezuje předávkování. Při delším pobytu na slunci nedochází k intoxikaci právě z toho důvodu, že pre-vitamin D<sub>3</sub>, který je tvořen, a termální izomerační produkt vitaminu D<sub>3</sub> rozkládají na neaktivní metabolity, jako jsou lumisterol a tachysterol. Tento mechanismus nám zajišťuje, že i při dlouhodobém pobytu na slunci nedochází k toxickým hladinám vitaminu D v těle [2, 17, 31].

### **5.1.1 Faktory ovlivňující produkci vitaminu D<sub>3</sub> v kůži**

Množství 7-dehydrocholesterolu v kůži je po celý náš život relativně konzistentní, až do stáří, kdy dochází k poklesu. Jako příklad nám může posloužit 70letý člověk, který je vystaven stejnému množství slunečního záření jako 20letý jedinec. Rozdíl je v tom, že 70letý člověk si vytvoří pouze 25% množství vitaminu D<sub>3</sub> než množství, které vytvoří 20letý člověk [46, 47].

Dalším faktorem, který ovlivňuje produkci vitaminu D<sub>3</sub> je melanin, tedy pigment v kůži, který se vyvinul jako přirozená ochrana proti slunci, právě díky své schopnosti efektivně absorbovat UVB fotony. Proto lidé se zvýšenou pigmentací vyžadují delší vystavení slunečnímu svitu, aby si vytvořili stejné množství vitaminu D<sub>3</sub> jako jedinci se světlým typem kůže. Jako příklad nám poslouží dospělý jedinec s typem kůže III, který se snadno spálí i opálí. Když tohoto jedince vystavíme jedné minimální erytémové dávce 54mJ/cm<sup>2</sup>, zjednodušeně se používá zkratka MED, vykazující 50násobné zvýšení koncentrace vitaminu D<sub>3</sub> v krvi za 8 hodin času. Oproti tomu dospělý člověk s typem kůže V, tedy Afro-Američan, který se nikdy nespálí, ale vždy se opálí, byl vystaven stejnému množství 54 mJ/cm<sup>2</sup>, ale nebyla u něj detekována zvýšená koncentrace vitaminu D<sub>3</sub> v krvi. Dospělí jedinci s typem kůže V totiž vyžadují 5-10násobek

času strávený na slunci, a i přesto by změřená koncentrace vitamínu D<sub>3</sub> vykazovala pouze 30násobné zvýšení [48].

Používání ochranných opalovacích prostředků absorbujících UVB záření absorpci vitamínu D ze slunce také nepomáhá, vzhledem k tomu, že zabraňuje procházení UVB záření do kůže, konkrétně do epidermis. Například opalovací krém s nízkým ochranným faktorem SPF 15 snižuje kapacitu kůže produkovat vitamín D<sub>3</sub> až o 98 % [49].

Roční období, zeměpisná šířka, a denní doba jsou další faktory které ovlivňují tvorbu cholekalciferolu. V zimě, kdy je slunce nejbližší k Zemi, vstupují sluneční paprsky do atmosféry pod šikmějším úhlem, tzv. zenitovým úhlem, a tím jsou fotony UVB záření absorbovány ozonovou vrstvou. To se děje proto, že šikmější úhel způsobuje, že UVB fotony procházejí ozonem na delší vzdálenost. Navíc, při šikmějším úhlu dopadá na zemský povrch méně fotonů na jednotku plochy. Proto u nás v České republice, a dalších zemích střední a severní Evropy, v zimních měsících, konkrétně od listopadu až do února, dochází k výraznému poklesu tvorby vitamínu D<sub>3</sub> v kůži v závislosti na zeměpisné šířce.

U obyvatelstva v zemích pod 37° zeměpisné šířky a blíže k rovníku, tedy například Španělsko, Turecko, Portugalsko, Itálie, Austrálie, Nový Zéland, Jižní Afrika a další, se v průběhu roku tvoří více vitamínu D<sub>3</sub> v kůži. Ovšem v brzkých ranních hodinách nebo pozdních odpoledních hodinách, kdy je zenitový úhel velmi šikmý, se v kůži neprodukuje dostatek vitamínu D<sub>3</sub> ani v letních měsících. Proto je opravdu důležité vystavovat se bezpečně slunci mezi 10 hodinou ranní a 15 hodinou odpolední v jarních, letních a podzimních měsících, protože to je jediná doba, kdy UVB fotony dosahují povrchu země k vytvoření vitamínu D<sub>3</sub> v kůži [50, 51, 52].

Vzhledem k tomu, že vitamín D<sub>3</sub> je vitamín rozpustný v tucích, dochází k jeho ukládání v těle právě v tuku. Jakýkoli nadbytek vitamínu D<sub>3</sub>, vytvořený v kůži díky pobytu na slunci, je ukládán v tukových zásobách a následně použit v zimě, kdy naše tělo v kůži nedokáže vytvořit dostatek vitamínu D<sub>3</sub>. U obézních pacientů, kteří absolvovali operaci bypass žaludku, bylo nedávno zjištěno, že jejich břišní tuk uchovával 4-400 ng/g vitamínu D<sub>3</sub> a vitamínu D<sub>2</sub>. Díky tomuto zjištění můžeme říci, že u obézních jedinců může docházet ke zvýšenému riziku nedostatku vitamínu D právě kvůli tomu, že jejich tukové zásoby fungují jako nevratný zásobník vitamínu D [53].

## **5.2 Metabolismus ergokalciferolu**

Ergokalciferol získáváme z potravy, tudíž se jeho metabolismus odehrává v gastrointestinální soustavě. Ergokalciferol je absorbován v tenkém střevě pomocí mechanismů, které zahrnují

chylomikrony, což jsou lipoproteiny usnadňující transport lipidů a vitaminů rozpustných v tucích. Absorpce vitaminu D<sub>2</sub> je efektivnější v přítomnosti tuků v potravě, které zvyšují jeho rozpustnost. Po absorpci je ergokalciferol transportován do jater prostřednictvím lymfatického systému a krevního oběhu.

První krok v metabolismu ergokalciferolu probíhá v játrech, kde je enzymem 25-hydroxylázou (CYP2R1 a další izoformy) přeměněn na 25-hydroxyergokalciferol (25(OH)D<sub>2</sub>). Tato forma vitaminu D je hlavní cirkulující formou v krvi a slouží jako zásobní forma, která je měřena v krevních testech k určení stavu vitaminu D v těle.

Dalším důležitým krokem v metabolismu vitaminu D<sub>2</sub> je hydroxylace. Ta se odehrává v ledvinách, kde enzym 1 $\alpha$ -hydroxyláza (CYP27B1) přeměňuje 25(OH)D<sub>2</sub> na jeho aktivní formu, 1,25-dihydroxyergokalciferol (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>2</sub>), známý také jako kalcitriol. Tato forma vitaminu D působí jako hormon a hraje klíčovou roli v regulaci absorpce vápníku a fosforu ve střevěch, udržuje jejich hladinu v krvi a podporuje zdraví kostí.

Kalcitriol, aktivní forma vitaminu D, se váže na vitamin D receptor (VDR), který je přítomen v mnoha typech buněk v těle. Vázáním kalcitriolu na VDR dochází k regulaci exprese stovky genů, které ovlivňují různé biologické funkce, včetně metabolismu minerálů, imunitní odpovědi, buněčného růstu, diferenciaci a apoptózy (programované buněčné smrti).

Vitamin D má také významné imunomodulační vlastnosti. Kalcitriol ovlivňuje funkci imunitních buněk, jako jsou makrofágy a dendritické buňky, a stimuluje produkci antimikrobiálních peptidů, které pomáhají bojovat proti infekcím. Může také modulovat zánětlivé procesy a hrát roli v prevenci autoimunitních onemocnění [1, 54, 55].

## **6 Stanovení vitaminu D<sub>2</sub> a D<sub>3</sub>**

Kvantifikaci vitaminu D provází několik výzev, a jednou z nich je právě komplikace měření 25-hydroxyvitaminu díky pevné vazbě na DBP. Díky této pevné vazbě mohou při měření vzniknout chyby a odchylky mezi jednotlivými měřícími technikami. Přesnost měření je ovlivněna různými faktory, což může zapříčinit rozdíly ve výsledcích napříč různými metodami.

Mezi metody, které jsou využívány pro měření v lidském séru, hlavně v krvi, patří například kompetitivní protein-vazebné testy (CPB), radioimunoanalýza (RIA) a chemiluminiscenční imunoanalýzy (CLIA). Tyto testy jsou dostupné jako komerční sady, a díky tomu je možné zpracovat velké množství vzorků rychle a automatizovaně.

Jedním z problémů při měření je různá reaktivita protilátek s vitaminy D<sub>2</sub> a D<sub>3</sub> a jejich epimery. Epimery, jako je 2-epi-25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub>, mohou vznikat stereochemickou inverzí hydroxylové skupiny a jejich přítomnost může ovlivnit přesnost měření. [57]

Stanovení vitamínu D v potravinách je výzva sama o sobě. Protože hodnoty vitamínů v potravinách jsou velmi malé, je třeba dbát na přesnou a adekvátní přípravu vzorku. Dalším problémem mohou být různé chemické a biochemické struktury vitamínů, většinou vázané na protein nebo koenzym. Tyto vazby jsou významné právě u mléčných výrobků, proto při stanovení vitamínu D je třeba několikasupňová příprava vzorku. Hlavním krokem v přípravě tohoto vzorku je extrakce. Mezi významné metody extrakce vhodné u vzorku vitamínu D patří například extrakce pevné fáze (SPE), magnetická extrakce pevné fáze anebo disperzní extrakce kapalina-kapalina. Díky úpravě vzorku extrakcí můžeme výsledný roztok využít k metodě stanovení. [58]

Jednou z těchto metod je kapalinová chromatografie (LC), která se již historicky využívá s UV detekcí pro oddělení různých forem vitamínu D. I přesto, že je UV detekce omezená ve své analytické specifitě, LC umožňuje oddělení jednotlivých vitamínů D, což je klíčové pro jejich přesné měření.

Technika LC-MS/MS, tedy kapalinová chromatografie spojená s tandemovou spektrometrií, je přesnější metoda, která nám přináší výhody měření v poměru hmotnosti k náboji iontů, díky čemuž umožňuje přesnější identifikaci a kvantifikaci vitamínu D. Tato metoda je hojně využívána právě díky své reprodukovatelnosti a přesnosti. I přesto, ale i tato metoda čelí výzvám jako jsou například interference z jiných chemických sloučenin v analyzovaném vzorku. [57]

## **7 Porovnání účinnosti vitamínu D<sub>2</sub> a D<sub>3</sub>**

V této poslední kapitole bych se chtěla věnovat shrnutí výsledků čtyř vybraných studií zkoumajících různé strategie zvýšení vitamínu D v séru a potravě.

První studie zkoumající biologickou dostupnost vitamínu D<sub>2</sub> z chleba obohaceného kvasnicemi ukázala, že tento postup je méně účinný ve srovnání s krystalickým vitamínem D<sub>2</sub> a vitamínem D<sub>3</sub> z mléčných výrobků. Fortifikace chleba lyofilizovanými UV-ošetřenými kvasnicemi vedla k nízké biologické dostupnosti vitamínu D<sub>2</sub>, jednalo se o pouhých 6-7 %. Oproti tomu chléb fortifikovaný krystalickým vitamínem D<sub>2</sub> měl čtyřikrát vyšší biologickou dostupnost. Vitamin D<sub>3</sub> z mléčných výrobků dosáhl také vyšší biologické dostupnosti. U mléčných výrobků se jednalo dokonce o 71-85 %. Důvodem pro nižší biologickou dostupnost z kvasnicových

produktů je pravděpodobně uvěznění vitamínu D<sub>2</sub> v méně stravitelné kvasnicové matrici, což omezuje jeho uvolňování během trávení. [59]

Další studie se zaměřila na porovnání účinků vitamínu D<sub>2</sub> a D<sub>3</sub> na metabolismus vitamínu D u 52 dospělých. Účastníci studie byli testováni na obsah sérových koncentrací před a po čtyřměsíčním podáváním vitamínů D<sub>2</sub> a D<sub>3</sub>. Výsledky ukázaly, že vitamin D<sub>3</sub> je účinnější než vitamin D<sub>2</sub> při zvyšování sérových koncentrací 25-hydroxyvitamínu D. Podávání vitamínu D<sub>2</sub> vedlo ke snížení sérových koncentrací, zatímco vitamin D<sub>3</sub> hladiny všech měřených metabolitů zvýšil. Tato studie potvrzuje, že vitamin D<sub>2</sub> je méně účinný než vitamin D<sub>3</sub> při celkovém zvyšování hladiny 25(OH)D v séru. [60]

Dále jsem využila systematickou recenzi a meta-analýzu náhodných kontrolovaných studií, která zkoumala účinky různých potravin obohacených vitamínem D na koncentrace 25(OH)D v krvi. Byly zahrnuty studie s fortifikovaným chlebem, pomerančovým džusem, UV-ošetřenými houbami, sýrem, jogurtem, mlékem, sušeným mlékem, vejci, jedlými oleji a snídaňovými cereáliemi. Výsledky ukázaly, že fortifikace těchto potravin vede ke zlepšení hladin 25(OH)D v krvi. Například konzumace obohaceného chleba a sušenek vedla k významnému zvýšení koncentrace 25(OH)D, zejména při použití nižších dávek vitamínu D<sub>3</sub>. Podobně, fortifikace pomerančového džusu vitamínem D vedla ke zvýšení hladin 25(OH)D, přičemž efekt byl větší u dospělých užívajících vyšší dávky vitamínu D. Fortifikace mléka a mléčných výrobků také vedla k významnému zvýšení hladin 25(OH)D bez rozdílu mezi použitím vitamínu D<sub>3</sub> a D<sub>2</sub>. Konzumace různých potravin obohacených vitamínem D, včetně rostlinných a živočišných zdrojů, vede ke zlepšení koncentrací 25(OH)D v krvi. Tyto výsledky podporují použití fortifikace potravin vitamínem D pro zlepšení stavu vitamínu D v populaci. [61]

Jedna ze studií se věnovala i efektivitě vitamínu D<sub>2</sub> a D<sub>3</sub> v primární zdravotní péči v Kataru. Cílem studie bylo zjistit, jak efektivní je parenterální suplementace vitamínem D<sub>2</sub> (600 000 U/1.5 ml) ve srovnání s vitamínem D<sub>3</sub> (300 000 U/1 ml) při zvyšování sérových hladin vitamínu D u dospělých pacientů. Jednalo se o retrospektivní studii provedenou ve 28 zdravotnických zařízeních provozovaných *Primary Health Care Corporation* v Kataru. Celkem se účastnilo kolem 15 tisíc jedinců ve věku 18-60 let po dobu 2 a půl let. Bylo využito injekcí vitamínu D<sub>2</sub>, u kterých došlo k nejmenšímu zvýšení hladin vitamínu D v séru. Byly použity i kombinace injekcí a tablet vitamínů D. Největší efekt však měla injekce vitamínu D<sub>3</sub>, což se ukázalo být nejlepším způsobem, jak obnovit vážný nedostatek vitamínu D v primární péči. [62]

Tyto 4 studie ukazují, že vitamin D<sub>3</sub> je efektivnější než vitamin D<sub>2</sub> při zvyšování hladiny 25-hydroxyvitaminu D v séru, a to jak prostřednictvím přímého doplňování, tak při fortifikaci potravin. Fortifikace potravin, jako jsou chléb, mléčné výrobky a pomerančový džus, se ukázala jako účinná strategie pro zlepšení příjmu vitaminu D v populaci. Rozdíly v biologické dostupnosti a účinnosti mezi vitaminem D<sub>2</sub> a D<sub>3</sub> naznačují, že je nutné pečlivě zvolit vhodnou formu vitaminu D pro fortifikaci a doplňování stravy. Při hodnocení účinků fortifikace a doplňování vitaminu D by měly být zohledněny i faktory jako BMI a základní hladiny 25(OH)D.

## ZÁVĚR

V této bakalářské práci jsem se podrobně zabývala srovnáním dvou forem vitamínu D, a to ergokalciferolu (vitamin D<sub>2</sub>) a cholekalciferolu (vitamin D<sub>3</sub>). Na základě analýzy dostupné literatury jsem se pokusila odpovědět na otázku, která z těchto forem je účinnější pro lidské zdraví, zejména z hlediska jejich absorpce, metabolismu, biologické účinnosti a celkového vlivu na zdraví kostí a imunitní systém.

Z literární rešerše vyplývá, že cholekalciferol (vitamin D<sub>3</sub>) je obecně lépe absorbován lidským tělem než ergokalciferol (vitamin D<sub>2</sub>). Studie ukazují, že po podání vitamínu D<sub>3</sub> dochází k vyšším hladinám 25-hydroxyvitamínu D v krvi, což je hlavní marker pro hodnocení stavu vitamínu D. Důvodem je vyšší afinita D<sub>3</sub> k proteinům vázajícím vitamin D a jeho delší poločas rozpadu v oběhu.

Metabolické cesty obou forem vitamínu D ukazují na klíčové rozdíly v jejich biologické účinnosti. Enzym CYP27B1 katalyzuje přeměnu 25-hydroxyvitamínu D na jeho aktivní formu, 1,25-dihydroxyvitamin D. Zatímco obě formy procházejí hydroxylací, vitamin D<sub>3</sub> vykazuje vyšší stabilitu a schopnost vázat se na vitamin D receptory, což vede k vyšší biologické aktivitě ve srovnání s vitaminem D<sub>2</sub>. Ergokalciferol je také rychleji metabolizován a vylučován, což snižuje jeho účinnost.

Navíc, vitamin D<sub>2</sub> je častěji přítomen v rostlinných zdrojích, zatímco vitamin D<sub>3</sub> je především v živočišných produktech a je také syntetizován v kůži působením slunečního záření. Tento rozdíl v původu může ovlivnit dostupnost a vhodnost jednotlivých forem pro různé skupiny populace vzhledem k zeměpisné šířce kde žijí, ale zároveň i k typu stravování jednotlivých jedinců, kupříkladu vegetariáni a vegani jsou odkázáni pouze na vitamin D<sub>2</sub> právě díky jeho rostlinnému původu.

Klinické studie potvrzují, že suplementace vitaminem D<sub>3</sub> je efektivnější při zvyšování hladin 25(OH)D v séru než suplementace vitaminem D<sub>2</sub>. Toto je důležité zejména pro starší dospělé a osoby s rizikem nedostatku vitamínu D. Vyšší biologická dostupnost a účinnost vitamínu D<sub>3</sub> se promítá do lepší prevence a léčby osteoporózy a dalších onemocnění spojených s nedostatkem vitamínu D.

Důkazy naznačují, že vitamin D<sub>3</sub> má vyšší afinitu k jaterní 25-hydroxyláze, což je enzym klíčový pro přeměnu vitamínu D na jeho aktivní formu. Tento enzymový krok je nezbytný pro produkci 1,25-dihydroxyvitamínu D, který je hlavní biologicky aktivní formou vitamínu D v

těle. Rozdíly v enzymatické aktivitě mezi D<sub>2</sub> a D<sub>3</sub> mohou vysvětlit, proč D<sub>3</sub> má větší biologickou účinnost.

Obě formy vitamínu D jsou obecně považovány za bezpečné, pokud jsou užívány v doporučených dávkách. Nicméně, vzhledem k vyšší účinnosti vitamínu D<sub>3</sub>, je menší riziko předávkování a hyperkalcémie při správném dávkování ve srovnání s vitamínem D<sub>2</sub>. Toto tvrzení podporuje výhodu vitamínu D<sub>3</sub> jako preferované formy suplementace.

Bezpečnostní profil vitamínu D<sub>3</sub> je dobře zdokumentován, a to i při vysokých dávkách podávaných krátkodobě. Ergokalciferol může mít méně příznivý bezpečnostní profil, zejména při dlouhodobém užívání vysokých dávek, což je důležité zohlednit při plánování dlouhodobé suplementace.

Na základě těchto zjištění je doporučeno prioritizovat cholekalciferol v klinické praxi a při formulaci potravinových doplňků. Pro osoby s nedostatkem vitamínu D nebo zvýšenou potřebou, jako jsou starší lidé, těhotné ženy a jedinci s omezeným vystavením slunečnímu záření, je suplementace vitamínem D<sub>3</sub> optimální volbou. Ergokalciferol může být alternativou v situacích, kde není dostupný vitamin D<sub>3</sub>, avšak je třeba zvážit nižší účinnost a potřebu vyšších dávek.

Výhody cholekalciferolu zahrnují lepší absorpci, delší poločas v těle, vyšší biologickou účinnost a lepší bezpečnostní profil ve srovnání s ergokalciferolem. Tyto vlastnosti činí vitamin D<sub>3</sub> optimální volbou pro zajištění adekvátních hladin vitamínu D v populaci, a tím přispívají k prevenci širokého spektra onemocnění spojených s jeho nedostatkem.

Závěrem lze říci, že i když oba typy vitamínu D mohou hrát roli v podpoře zdraví, důkazy silně podporují použití cholekalciferolu jako preferované formy pro doplňkovou výživu a klinickou intervenci. Tím, že upřednostníme vitamin D<sub>3</sub>, můžeme lépe zajistit, že populace bude mít optimální hladiny tohoto klíčového vitamínu, což povede ke zlepšení celkového zdraví a kvality života.

## POUŽITÁ LITERATURA

- [1] Kulda V. Metabolizmus vitaminu D. *Vnitr Lek.* 2012;58(5):400-404.
- [2] Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.* 2004 Dec;80(6 Suppl):1678S-88S. doi: 10.1093/ajcn/80.6.1678S.
- [3] White, J. H. (2022). Emerging roles of Vitamin D-induced antimicrobial peptides in antiviral innate immunity. *Nutrients*, 14(2), 284. <https://doi.org/10.3390/nu14020284>
- [4] Matthias Wacker & Michael F. Holick (2013) Sunlight and Vitamin D, *Dermato-Endocrinology*, 5:1, 51-108, DOI: 10.4161/derm.24494
- [5] Sigma-Aldrich. (2023). [Image of chemical compound CAS 123-45-6]. Retrieved from <https://www.sigmaaldrich.com/CZ/en/product/sigma/95220>
- [6] Steenbock, H., & Black, A. (1924). Fat-soluble vitamins. XVII. The induction of growth-promoting and calcifying properties in a ration by exposure to ultraviolet light. *Journal of Biological Chemistry*, 61, 405-422.
- [7] Hess, A. F., & Weinstock, M. (1924). Antirachitic properties imparted to inert fluids and to milk by ultraviolet irradiation. *Journal of Biological Chemistry*, 62, 301-313.
- [8] Holick, M. F. (2004). Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(3), 362-371.
- [9] Britannica, The Editors of Encyclopaedia. "vitamin D". *Encyclopedia Britannica*, 10 May. 2024, <https://www.britannica.com/science/vitamin-D>. Accessed 11 May 2024.
- [10] Waisser K. *Nové české názvosloví organické chemie*. Praha: Karolinum 2002: 147-158.
- [11] Velíšek, J. *Chemie potravin*. Vyd. 2. upr. Tábor: OSSIS, 2002. ISBN 80-866- 5902-X.
- [12] DeLuca, H. F. (2004). Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *American Journal of Clinical Nutrition*, 80(6), 1689S-1696S. doi:10.1093/ajcn/80.6.1689S
- [13] Cashman, K. D. (2007). Vitamin D in childhood and adolescence. *Postgraduate Medical Journal*, 83(978), 230-235. doi:10.1136/pgmj.2006.052787
- [14] Cantorna, M. T., Snyder, L., & Lin, Y. D. (2015). Vitamin D and 1,25(OH)<sub>2</sub>D regulation of T cells. *Nutrients*, 7(4), 3011-3021. doi:10.3390/nu7043011

- [15] Holick, M. F., & Chen, T. C. (2008). Vitamin D deficiency: A worldwide problem with health consequences. *American Journal of Clinical Nutrition*, 87(4), 1080S-1086S. doi:10.1093/ajcn/87.4.1080S
- [16] Ross, A. C., Taylor, C. L., Yaktine, A. L., & Del Valle, H. B. (2011). *Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D*. National Academies Press. doi:10.17226/13050
- [17] Vieth, R. (1999). Vitamin D supplementation, 25-hydroxyvitamin D concentrations, and safety. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69(5), 842-856. doi:10.1093/ajcn/69.5.842
- [18] Heaney, R. P., Davies, K. M., Chen, T. C., Holick, M. F., & Barger-Lux, M. J. (2003). Human serum 25-hydroxycholecalciferol response to extended oral dosing with cholecalciferol. *American Journal of Clinical Nutrition*, 77(1), 204-210. doi:10.1093/ajcn/77.1.204
- [19] Cantorna, M. T., & Mahon, B. D. (2004). D-hormone and the immune system. *Journal of Rheumatology*, 31(1), 29-38. PMID:14719280
- [20] Sigma-Aldrich. (2023). [Obrázek 4 Ergokalciferol]. Převzato z <https://www.sigmaaldrich.com/CZ/en/product/sigma/95220>
- [21] Holick, M. F. (2007). Vitamin D deficiency. *New England Journal of Medicine*, 357(3), 266-281. doi:10.1056/NEJMra070553
- [22] USDA FoodData Central. (2021). *Nutrient Database for Standard Reference*. U.S. Department of Agriculture. Převzato z <https://fdc.nal.usda.gov/>
- [23] Cashman, K. D., Muldowney, S., McNulty, B., Nugent, A., FitzGerald, A. P., Kiely, M., & Flynn, A. (2011). Vitamin D status of Irish adults: findings from the National Adult Nutrition Survey. *British Journal of Nutrition*, 106(9), 1617-1623. doi:10.1017/S000711451100219X
- [24] Chiellini, G., & DeLuca, H. (2011). The Importance of Stereochemistry on the Actions of Vitamin D. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 11(7), 840-859. doi:10.2174/156802611795165016
- [25] Novak, J., & Krsek, M. (2013). Vitamin D v praktické medicíně. *Interní Medicína pro Praxi*, 15(8), 548-555. Retrieved from <https://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2013/08/05.pdf>
- [26] Webb, A. R.; Kline, L.; Holick, M. F. Influence of season and latitude on the cutaneous synthesis of vitamin D<sub>3</sub>: exposure to winter sunlight in Boston and Edmonton will not promote vitamin D<sub>3</sub> synthesis in human skin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1988, 67, 373- 378.

- [27] Barger-Lux, M. J., Heaney, R. P., Dowell, S., Chen, T. C., & Holick, M. F. (1998). Vitamin D and its major metabolites: serum levels after graded oral dosing in healthy men. *Osteoporosis International*, 8(3), 222-230. doi:10.1007/s001980050056
- [28] Calvo, M. S., & Whiting, S. J. (2003). Prevalence of vitamin D insufficiency in Canada and the United States: Importance to health status and efficacy of current food fortification and dietary supplement use. *Nutrition Reviews*, 61(3), 107-113. doi:10.1301/nr.2003.marr.107-113
- [29] Tripkovic, L., Lambert, H., Hart, K., Smith, C., Bucca, G., Penson, S., ... & Lanham-New, S. A. (2012). Comparison of vitamin D<sub>2</sub> and vitamin D<sub>3</sub> supplementation in raising serum 25-hydroxyvitamin D status: a systematic review and meta-analysis. *American Journal of Clinical Nutrition*, 95(6), 1357-1364. doi:10.3945/ajcn.111.031070
- [30] Urbain, P., Singler, F., Ihorst, G., Biesalski, H. K., & Bertz, H. (2011). Bioavailability of vitamin D<sub>2</sub> from UV-B-irradiated yeast in humans. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 96(11), 3633-3639. doi:10.1210/jc.2011-1004
- [31] Holick, M. F. (2004). Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80(6), 1678S-1688S. doi:10.1093/ajcn/80.6.1678s
- [32] Wacker, M., & Holick, M. F. (2013). Sunlight and Vitamin D: A global perspective for health. *Dermato-Endocrinology*, 5(1), 51-108. doi:10.4161/derm.24494
- [33] Tripkovic, L., Lambert, H., Hart, K., Smith, C., Bucca, G., Penson, S., ... & Lanham-New, S. A. (2012). Comparison of vitamin D<sub>2</sub> and vitamin D<sub>3</sub> supplementation in raising serum 25-hydroxyvitamin D status: a systematic review and meta-analysis. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 95(6), 1357-1364. doi:10.3945/ajcn.111.031070
- [34] Armas, L. A., Hollis, B. W., & Heaney, R. P. (2004). Vitamin D<sub>2</sub> is much less effective than vitamin D<sub>3</sub> in humans. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89(11), 5387-5391. doi:10.1210/jc.2004-0360
- [35] Houghton, L. A., & Vieth, R. (2006). The case against ergocalciferol (vitamin D<sub>2</sub>) as a vitamin supplement. *American Journal of Clinical Nutrition*, 84(4), 694-697. doi:10.1093/ajcn/84.4.694

- [36] Norman, A. W. (2008). From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *American Journal of Clinical Nutrition*, 88(2), 491S-499S. doi:10.1093/ajcn/88.2.491S
- [37] Mehta, R. G., & Mehta, R. R. (2002). Vitamin D and cancer. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 80(1), 21-24. doi:10.1016/S0960-0760(01)00185-3
- [38] Schwalfenberg, G. K. (2011). A review of the critical role of vitamin D in the functioning of the immune system and the clinical implications of vitamin D deficiency. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55(1), 96-108. doi:10.1002/mnfr.201000174
- [39] Simon, R. R., & Phillips, K. M. (2011). Effect of UV light exposure on vitamin D content of edible mushrooms. *Food Chemistry*, 124(2), 569-573. doi:10.1016/j.foodchem.2010.06.085
- [40] Keegan, R. J., Lu, Z., Bogusz, J. M., Williams, J. E., & Holick, M. F. (2013). Photobiology of vitamin D in mushrooms and its bioavailability in humans. *Dermato-Endocrinology*, 5(1), 165-176. doi:10.4161/derm.23321
- [41] Interní materiály firmy Synthesia a. s. (10.5.2024)
- [42] Biancuzzo RM, Young A, Bibuld D, Cai MH, Winter MR, Klein EK, et al. Fortification of orange juice with vitamin D<sub>2</sub> or vitamin D<sub>3</sub> is as effective as an oral supplement in maintaining vitamin D status in adults. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2010;91(6):1621-1626. doi:10.3945/ajcn.2009.27972.
- [43] Borel, P., Caillaud, D., & Cano, N. J. (2013). Vitamin D Bioavailability: State of the Art. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(9), 1193-1205. doi:10.1080/10408398.2012.688897
- [44] Chiellini G, DeLuca HF. The importance of stereochemistry on the actions of vitamin D. *Curr Top Med Chem* 2011; 11: 840-859. 5. Lehmann B, Meurer M. Vitamin D metabolism. *Dermatol Ther* 2010; 23: 2-12.
- [45] Christakos, S., Dhawan, P., Verstuyf, A., Verlinden, L., & Carmeliet, G. (2016). Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanism of Action, and Pleiotropic Effects. *Physiological Reviews*, 96(1), 365–408. doi:10.1152/physrev.00014.2015
- [46] MacLaughlin J, Holick MF. Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D<sub>3</sub>. *J Clin Invest* 1985;76:1536 – 8. 18.

- [47] Holick MF, Matsuoka LY, Wortsman J. Age, vitamin D, and solar ultraviolet. *Lancet* 1989;2:1104–5.
- [48] Clemens TL, Henderson SL, Adams JS, Holick MF. Increased skin pigment reduces the capacity of skin to synthesise vitamin D<sub>3</sub>. *Lancet* 1982;1:74 - 6.
- [49] Matsuoka LY, Ide L, Wortsman J, MacLaughlin J, Holick MF. Sunscreens suppress cutaneous vitamin D<sub>3</sub> synthesis. *J Clin Endocrinol Metab* 1987;64:1165- 8.
- [50] Holick MF. Vitamin D: a millennium perspective. *J Cell Biochem* 2003;88:296–307. 3. Holick MF. McCollum Award Lecture, 1994: vitamin D: new horizons for the 21st century. *Am J Clin Nutr* 1994;60:619–30.
- [51] Matsuoka LY, Ide L, Wortsman J, MacLaughlin J, Holick MF. Sunscreens suppress cutaneous vitamin D<sub>3</sub> synthesis. *J Clin Endocrinol Metab* 1987;64:1165- 8.
- [52] Holick MF. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *Am J Clin Nutr* 2004;79: 362–71.
- [53] Bell NH, Epstein S, Greene A, Shary J, Oexmann MJ, Shaw S. Evidence for alteration of the vitamin D-endocrine system in obese subjects. *J Clin Invest* 1985;76:370 -3. 24.
- [54] Saponaro, F., Saba, A., & Zucchi, R. (2020). An Update on Vitamin D Metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(18), 6573. <https://doi.org/10.3390/ijms21186573>
- [55] Dominguez, L. J., Farruggia, M., Veronese, N., & Barbagallo, M. (2021). Vitamin D Sources, Metabolism, and Deficiency: Available Compounds and Guidelines for Its Treatment. *Metabolites*, 11(4), 255. <https://doi.org/10.3390/metabo11040255>
- [56] Houghton, L. A., & Vieth, R. (2006). The case against ergocalciferol (vitamin D<sub>2</sub>) as a vitamin supplement. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 84(4), 694–697. doi:10.1093/ajcn/84.4.694
- [57] Stokes C. S., Lammert F. and Volmer D. A. *Anticancer Research* February 2018, 38 (2) 1137-1144;
- [58] Sereshti, H., Toloutehrani, A., & Rashidi Nodeh, H. (2019). Determination of cholecalciferol (vitamin D<sub>3</sub>) in bovine milk by dispersive micro-solid phase extraction based on the magnetic three-dimensional graphene-sporopollenin sorbent. *Journal of Chromatography B*, 121907. doi:10.1016/j.jchromb.2019.121907

- [59] Lipkie, T. E., Ferruzzi, M. G., & Weaver, C. M. (2016). Low bioaccessibility of vitamin D<sub>2</sub> from yeast-fortified bread compared to crystalline D<sub>2</sub> bread and D<sub>3</sub> from fluid milks. *Food Function*, 7, 4589-4596. doi: 10.1039/c6fo00935b
- [60] Martineau, A. R., Thummel, K. E., Wang, Z., Jolliffe, D. A., Boucher, B. J., Griffin, S. J., Forouhi, N. G., & Hitman, G. A. (2019). Differential Effects of Oral Boluses of Vitamin D<sub>2</sub> vs Vitamin D<sub>3</sub> on Vitamin D Metabolism: A Randomized Controlled Trial. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 104(12), 5831-5839. DOI: 10.1210/jc.2019-00207.
- [61] Cashman, K. D., & O'Neill, C. M. (2024). Strategic food vehicles for vitamin D fortification and effects on vitamin D status: A systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 238, 106448. doi: 10.1016/j.jsbmb.2023.106448.
- [62] Albarri, E. M. A., Alnuaimi, A. S., & Abdelghani, D. (2022). Effectiveness of vitamin D<sub>2</sub> compared with vitamin D<sub>3</sub> replacement therapy in a primary healthcare setting: a retrospective cohort study. *Qatar Medical Journal*, 2022(3), 35. doi: 10.5339/qmj.2022.35