

**VYHODNOCENÍ PRODUKCE 24,25-DIHYDROXYVITAMINU D₃ SE ZVYŠUJÍCÍMI
SE DÁVKAMI SUPLEMENTACE VITAMINEM D U ZDRAVÝCH MLADÝCH DOSPĚLÝCH**
**EVALUATION OF 24,25-DIHYDROXYVITAMIN D₃ PRODUCTION WITH INCREASING
DOSES OF VITAMIN D SUPPLEMENTATION IN HEALTHY YOUNG ADULTS**

Michal Jirásko^{1,2} – Eliška Fousková¹ – Radek Kučera^{1,2} – Hedvika Hatáková^{1,2}

**¹ Ústav farmakologie a toxikologie, Univerzita Karlova,
Lékařská fakulta v Plzni, Alej Svobody 76, 323 00 Plzeň, Česká republika**

**² Oddělení imunochemické diagnostiky, Fakultní nemocnice Plzeň,
Edvarda Beneše 1128/13, 305 99 Plzeň, Česká republika**

<https://doi.org/10.11118/978-80-7701-100-6-014>



ABSTRAKT

Rostoucí zájem o suplementaci vitaminu D s sebou přinesl obavy ohledně optimálního dávkování a potenciálního rizika toxicity. Nejnovější důkazy naznačují, že toxicita vitaminu D může být přeceňována; identifikace dalších metabolických inaktivačních drah totiž poukazuje na komplexnější regulaci jeho metabolismu. Jedna z těchto cest zahrnuje 25-hydroxyvitamin D₃ 24-hydroxylázu, která přeměňuje 25-hydroxyvitamin D₃ (25OHD₃) na jeho neaktivní metabolit, 24,25-dihydroxyvitamin D₃ [24,25(OH)₂D₃]. V této studii jsme zkoumali vztah mezi suplementací vitaminu D a hladinami 24,25(OH)₂D₃ v séru u 38 zdravých mladých dospělých (průměrný věk 22 let) po dobu dvou let během zimních měsíců. Účastníci dostávali rostoucí dávky olejové emulze vitaminu D v rozmezí od 1 000 do 8 000 IU denně. Koncentrace 25OHD₃ a 24,25(OH)₂D₃ v séru byly kvantifikovány pomocí kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie a parametry tělesného složení, včetně indexu tělesné hmotnosti (BMI), procenta tělesného tuku, tukové hmoty a kostní svalové hmoty, byly hodnoceny pomocí systému InBody S10. Byla pozorována silná pozitivní korelace mezi koncentracemi 25OHD₃ a 24,25(OH)₂D₃ v séru. Produkce 24,25(OH)₂D₃ byla nejvýraznější při středních dávkách suplementace a zůstala stabilní i při nejvyšší dávce 8 000 IU. Poměr 25OHD₃/24,25(OH)₂D₃ byl vyšší u mužů a vykazoval významnou korelaci s BMI. Celkově metabolická inaktivace vitaminu D přetrvávala u všech dávek suplementace, přičemž poměr metabolitů byl relativně stabilní, což naznačuje, že denní suplementace až do 8 000 IU v zimních měsících nepřekračuje metabolickou kapacitu a jeví se jako bezpečná u zdravých mladých dospělých pro prevenci sezónního nedostatku vitaminu D.

Klíčová slova: vitamin D, suplementace, toxicita

ABSTRACT

Increasing interest in vitamin D supplementation has raised concerns regarding optimal dosing and the potential risk of toxicity; however, recent evidence suggests that vitamin D toxicity may be overestimated due to the presence of additional metabolic inactivation pathways. One such pathway involves 25-hydroxyvitamin D₃ 24-hydroxylase, which converts 25-hydroxyvitamin D₃ (25OHD₃) to its inactive metabolite, 24,25-dihydroxyvitamin D₃ [24,25(OH)₂D₃]. In this study, we examined the relationship between vitamin D supplementation and serum 24,25(OH)₂D₃ levels in 38 healthy young adults (mean age 22 years) over a two-year period during winter months. Participants received increasing doses of oil-based vitamin D supplementation ranging from 1,000 to 8,000 IU per day. Serum concentrations of 25OHD₃ and 24,25(OH)₂D₃ were quantified using liquid chromatography–mass spectrometry, and body composition parameters, including body mass index (BMI), body fat percentage, fat mass, and skeletal muscle mass, were assessed

using the InBody S10 system. A strong positive correlation was observed between serum 25OHD₃ and 24,25(OH)₂D₃ concentrations. The production of 24,25(OH)₂D₃ was most pronounced at moderate supplementation doses and remained stable even at the highest dose of 8,000 IU. The 25OHD₃/24,25(OH)₂D₃ ratio was higher in males and showed a significant association with BMI. Overall, vitamin D metabolic inactivation persisted across all supplementation doses, with a relatively stable metabolite ratio, suggesting that daily supplementation up to 8,000 IU during winter months does not exceed metabolic capacity and appears safe in healthy young adults for preventing seasonal vitamin D deficiency.

Keywords: vitamin D, 25-hydroxyvitamin D, 24,25-dihydroxyvitamin D, toxicity

ÚVOD

Vitamin D představuje pleiotropní hormon s účinky daleko přesahujícími regulaci kalciofosfátového metabolismu a kostní denzity. Receptor pro vitamin D (VDR) je exprimován téměř ve všech tkáních lidského organismu a v genomu bylo identifikováno několik tisíc vazebných míst pro VDR, což umožňuje ovlivnění exprese stovek genů. V posledních letech proto narůstá zájem o extraskeletální účinky vitaminu D, zejména v oblasti imunity a celkového metabolického zdraví. Zatímco pro udržení kostní denzity jsou považovány za dostatečné sérové koncentrace 25-hydroxyvitaminu D vyšší než 50 nmol/l, pro extraskeletální účinky jsou často doporučovány vyšší hladiny, přibližně 75–125 nmol·l⁻¹, případně až 150 nmol·l⁻¹.

V podmínkách střední Evropy je dosažení těchto koncentrací, zejména během zimních měsíců, bez suplementace obtížné. Rostoucí užívání vyšších dávek vitaminu D však vyvolává obavy z možného předávkování, především ve vztahu k riziku vzniku hyperkalcemie. Metabolismus vitaminu D je přitom přísně regulován enzymatickými drahami, z nichž klíčovou roli v inaktivaci vitaminu D hraje enzym 24-hydroxyláza (CYP24A1). Tento enzym zajišťuje přeměnu 25-hydroxyvitaminu D₃ (rovněž 1,25-hydroxyvitaminu D₃) na 24,25-dihydroxyvitamin D₃ (resp. 1,24,25-trihydroxyvitamin D₃), který představuje významný marker katabolismu vitaminu D. Přítomnost této metabolické inaktivační dráhy svědčí o existenci komplexních regulačních mechanismů metabolismu vitaminu D, které mohou hrát roli v omezení jeho nadměrných biologických účinků, a je proto relevantní při hodnocení potenciální toxicity vitaminu D.

Cílem této studie bylo sledovat hladiny 24,25-dihydroxyvitaminu D₃ v souvislosti se zvyšujícími se dávkami suplementace vitaminu D₃ u zdravé mladé populace a posoudit kapacitu metabolické inaktivace vitaminu D při vyšších suplementačních dávkách.

MATERIÁL A METODIKA

Do studie bylo zařazeno celkem 35 zdravých dobrovolníků (24 žen a 11 mužů), studentů lékařské fakulty, bez anamnézy poruch metabolismu vápníku, fosforu nebo vitaminu D. Průměrný věk probandů byl 22 let (rozmezí 20–26 let) a medián indexu tělesné hmotnosti činil 21,91 kg·m⁻² (rozmezí 18,3–29,3). BMI, procento tělesného tuku, tuková hmota a kostní svalová hmota byly hodnoceny pomocí systému InBody S10. Všichni účastníci byli považováni za klinicky zdravé a neužívali žádnou farmakoterapii, která by mohla ovlivnit metabolismus kalcia, fosforu či vitaminu D. Studie probíhala v období od října 2021 do března 2023, vždy v podzimních a zimních měsících (říjen–únor), kdy je endogenní syntéza vitaminu D minimální. Probandi podstupovali postupně zvyšující se suplementaci vitaminem D₃ ve formě olejového roztoku. Podávané dávky činily 1 000 IU, 2 000 IU, 4 000 IU a 8 000 IU denně. Odběry vzorků séra byly prováděny v souvislosti s dávkovacím režimem. Harmonogram suplementace a odběru krve je uveden v tabulce (tab. 1).

Tabulka 1: Harmonogram suplementace vitamínu D a odběrů krve

Měsíc studie	Suplementační dávka vitamínu D	Harmonogram odběru krve
Říjen 2021	1 000 IU	Před začátkem suplementace
Listopad 2021	1 000 IU	Po 60 dnech suplementace
Prosinec 2021	30 ± dní bez suplementace	Po 30denní pauze
Leden 2022	2 000 IU	
Únor 2022	2 000 IU	Po 60 dnech suplementace
Březen 2022	30 ± dní bez suplementace	Po 30denní pauze
Říjen 2022	4 000 IU	Před začátkem suplementace
Listopad 2022	4 000 IU	Po 60 dnech suplementace
Prosinec 2022	30 ± dní bez suplementace	Po 30denní pauze
Leden 2023	8 000 IU	
Únor 2023	8 000 IU	Po 60 dnech suplementace
Březen 2023	30 ± dní bez suplementace	Po 30denní pauze

Vzorky periferní krve byly odebrány do zkumavek VACUETTE® CAT Serum Separator Clot Activator (Greiner Bio-One, Kremsmünster, Rakousko). Do dvou hodin od odběru byly pro oddělení séra zkumavky centrifugovány při 1 700 otáčkách za minutu po dobu deseti minut. Každý vzorek séra byl poté rozdělen na tři alikvoty o stejném objemu 500 µl.

Stanovení metabolitu 24,25(OH)₂D₃ bylo provedeno metodou kapalinové chromatografie a tandemové hmotnostní spektrometrie (LC-MS/MS). Chromatografická separace byla realizována pomocí systému 1290 Infinity II LC (Agilent Technologies) vybaveného kolonou Agilent RRHD Eclipse Plus C18 (2,1 × 50 mm, velikost částic 1,8 µm). Před analýzou byly vzorky uchovávány v –80 °C a poté rozmrazeny ve vodní lázni při 30 °C, následně byly zvortexovány po dobu 10 sekund a podrobeny precipitaci proteinů za pokojové teploty (100 µl vzorku séra + 400 µl acetonitrilu (ACN) s 4% roztokem ZnSO₄). Pro odstranění lipidů bylo 100 µl každého vzorku séra smícháno se 400 µl roztoku interního standardu a nanášeno na kolonu Captiva EMR-Lipid. K uvolnění analytů adsorbovaných na sorbentu bylo přidáno 400 µl čistého ACN. Eluované vzorky byly odpařeny ve vyhřívaném koncentrátoru pod proudem dusíku. Před vlastní analýzou byly vzorky derivatizovány po dobu jedné hodiny při laboratorní teplotě přidavkem 100 µl derivatizačního činidla PTAD v ACN (1 mg·ml⁻¹) a následně přeneseny do měřicích lahvíček. Nástřik do LC-MS/MS činil 3 µl vzorku. Separace proběhla při 30 °C.

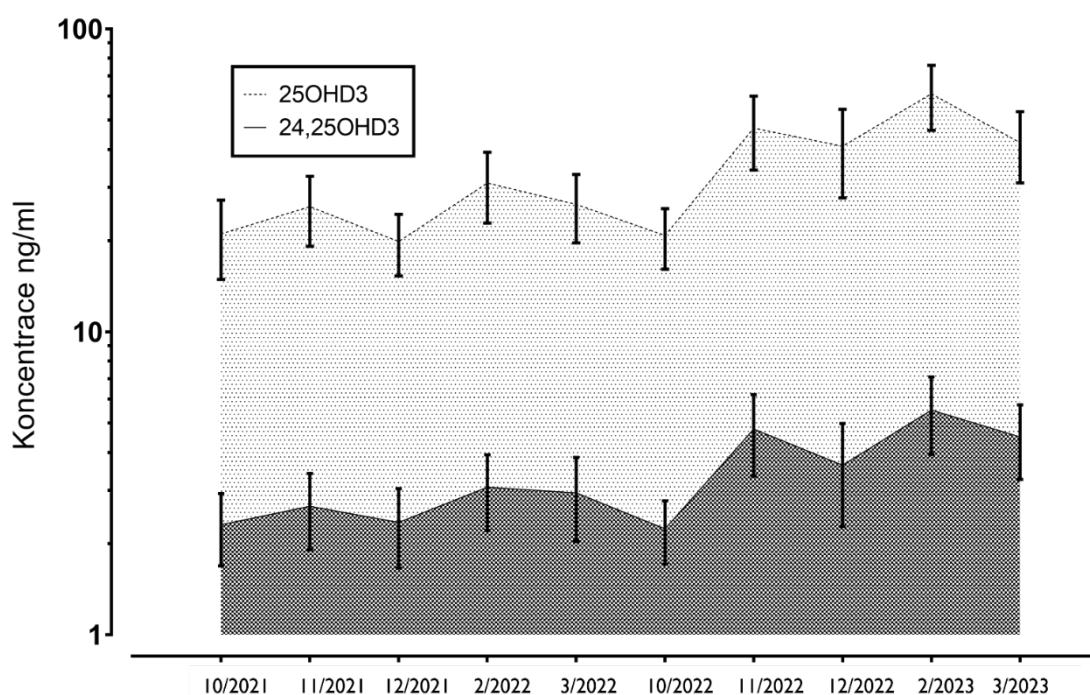
Analýza metabolitu 25OHD₃ byla provedena obdobně – po eluci a filtraci pro odstranění lipidů byl proveden nástřik 5 µl vzorku do LC-MS/MS. Identifikace a kvantifikace analytu byla provedena na stejném přístroji jako předchozí metabolit. Chromatografická separace byla provedena na koloně Poroshell 120 PFP (4,6 × 50 mm, velikost částic 2,7 µm, Agilent). Separace byla provedena při teplotě 20 °C s objemem injekce 5 µl. Před analýzou byly vzorky skladovány v autosampleru při teplotě 15 °C.

Hladiny PTH byly měřeny pomocí soupravy ACCESS Intact PTH na analyzátoru Unicel® DxI 800 (Beckman Coulter, Brea, CA, USA). Koncentrace vápníku a hořčíku byly kvantifikovány pomocí systému Cobas (Cobas 8000, Cobas c702, Roche Diagnostics, Basilej, Švýcarsko).

VÝSLEDKY A DISKUZE

V průběhu studie došlo u všech sledovaných dávek suplementace vitamínu D₃ k nárůstu sérových koncentrací 25OHD₃ i 24,25(OH)₂D₃. Mezi hladinami 25OHD₃ a 24,25(OH)₂D₃ byla zjištěna silná pozitivní korelace ($r = 0,877$; $p < 0,0001$), což svědčí o úzké vazbě mezi zásobní formou vitamínu D a jeho metabolickou inaktivací.

Po zahájení suplementace dávkou 1 000 IU/den došlo ke zvýšení koncentrace 25OHD₃ o 23,0 %, zatímco hladina 24,25(OH)₂D₃ vzrostla o 15,3 %. Při dávce 2 000 IU/den byl zaznamenán nárůst 25OHD₃ o 30,3 % a výraznější zvýšení 24,25(OH)₂D₃ o 56,2 %. Nejvýraznější změny byly pozorovány při dávce 4 000 IU/den, kdy koncentrace 25OHD₃ vzrostla o 113,4 % a 24,25(OH)₂D₃ o 126,2 %. Při nejvyšší dávce 8 000 IU/den byl nárůst obou metabolitů opět mírnější, přičemž 25OHD₃ se zvýšil o 52,2 % a 24,25(OH)₂D₃ o 49,0 %. Změny hladin obou metabolitů v průběhu studie jsou znázorněny na obrázku 1. Tento náleznaznačuje, že kapacita 24-hydroxylázy není při testovaných dávkách vyčerpána a že metabolická inaktivace vitamínu D probíhá efektivně i při vyšší suplementační zátěži.



Obrázek 1: Graf znázorňující vztah mezi sérovými koncentracemi 25OHD₃ a 24,25(OH)₂D₃ u zdravých mladých dospělých v průběhu postupně zvyšované suplementace vitamínem D₃

Legenda: Zobrazeny jsou průměrné hodnoty sérových hladin metabolitů vitamínu D ± směrodatná odchylka. Pro lepší přehlednost jsou hodnoty na ose y znázorněny v logaritmické stupnici.

Poměr 25OHD₃ ku 24,25(OH)₂D₃ se mezi pohlavími nelišil v absolutních hodnotách, nicméně dynamika změn tohoto poměru v průběhu suplementace byla významně odlišná. U mužů byl pozorován výraznější nárůst poměru 25OHD₃/24,25(OH)₂D₃ ve srovnání se ženami ($p < 0,0001$). Analýza vztahu mezi sledovanými metabolity a parametry tělesného složení prokázala statisticky významnou korelaci mezi poměrem 25OHD₃/24,25(OH)₂D₃ a BMI, přičemž vyšší BMI bylo asociováno s vyšším poměrem těchto metabolitů ($r = 0,196$; $p = 0,0001$). Slabší, avšak statisticky významná korelace byla zjištěna také mezi poměrem 25OHD₃/24,25(OH)₂D₃ a množstvím kosterní svalové hmoty ($r = 0,101$; $p = 0,0491$). Přímý vztah mezi absolutními koncentracemi 24,25(OH)₂D₃ a ostatními parametry tělesného složení nebyl výrazný.

Po celou dobu suplementace zůstávaly hladiny vápníku, fosfátu, hořčíku i parathormonu v referenčních mezích a nebyly zaznamenány žádné klinické známky poruch kalciofosfátového metabolismu. Tato skutečnost dále podporuje předpoklad, že suplementace vitaminem D₃ v dávkách až 8 000 IU/den je u zdravých mladých dospělých dobře tolerována a nevede k poruchám minerálového metabolismu. Tyto výsledky jsou v souladu s představou, že enzymatické regulační mechanismy metabolismu vitaminu D představují důležitý ochranný faktor proti jeho nadměrnému biologickému působení. Je však nutné zdůraznit, že studie byla provedena na relativně malé a homogenní skupině zdravých mladých jedinců, což omezuje zobecnitelnost výsledků na jiné populační skupiny, zejména starší osoby, pacienty s renálním onemocněním nebo poruchami metabolismu vitaminu D. Další studie zaměřené na dlouhodobé podávání vysokých dávek vitaminu D a na různé populační skupiny jsou proto žádoucí.

ZÁVĚR

Výsledky této studie ukazují, že metabolická inaktivace vitaminu D, hodnocená prostřednictvím hladin 24,25(OH)₂D₃, zůstává zachována i při postupně zvyšovaných dávkách suplementace až do 8 000 IU denně u zdravých mladých dospělých. Silná vazba mezi koncentracemi 25OHD₃ a jeho metabolitu svědčí o účinné a flexibilní regulaci metabolismu vitaminu D. Zjištěné rozdíly v dynamice poměru 25OHD₃/24,25(OH)₂D₃ mezi pohlavími a jeho asociace s BMI naznačují, že odpověď na suplementaci může být ovlivněna individuálními faktory tělesného složení. Absence změn v parametrech kalciofosfátového metabolismu podporuje předpoklad dobré tolerance vyšších dávek vitaminu D₃ v rámci testovaného rozmezí. Tyto nálezy přispívají k lepšímu pochopení regulačních mechanismů metabolismu vitaminu D a podporují racionální přístup k jeho suplementaci u zdravé populace.

LITERATURA

Holick, M. F. (2003): Vitamin D deficiency: what a pain it is. *Mayo Clinic proceedings*, 78(12), 1457–1459. Dostupné z: <https://doi.org/10.4065/78.12.1457>

Marcinowska-Suchowierska, E., Kupisz-Urbańska, M., Łukaszkiwicz, J., Płudowski, P., Jones, G. (2018): Vitamin D Toxicity-A Clinical Perspective. *Frontiers in endocrinology*, 9, 550. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00550>

Bikle, D. D. (2025): Vitamin D: Production, Metabolism, and Mechanism of Action. [Updated 2025 Jun 15]. In: Feingold KR, Adler RA, Ahmed SF, et al., editors. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278935/>

Kralova, M., Jirasko, M., Dedekova, E., Hatakova, H., Broz, P., Simanek, V., Slouka, D., Pecen, L., Kucera, R. (2025): Comparison of Vitamin D3 Supplementation Doses of 1,000, 2,000, 4,000 and 8,000 IU in Young Healthy Individuals. *In Vivo*, 39(1): 452–458. Dostupné z: <https://doi.org/10.21873/invivo.13848>

Kontaktní adresa: MUDr. Michal Jirásko, Ph.D., Ústav farmakologie a toxikologie, Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Plzni, Alej Svobody 76, 323 00 Plzeň, e-mail: michal.jirasko@lfp.cuni.cz