

Vliv vitamínu K na muskuloskeletální zdraví u postmenopauzálních žen

Effect of vitamin K on musculoskeletal health in postmenopausal women

Jan Rosa¹, Mária Stančíková²

¹Osteocentrum Affidea Praha, s.r.o.

²Národní ústav reumatických chorób Piešťany

✉ **MUDr. Jan Rosa** | rosaj@affidea-praha.cz | www.affidea.cz

Received | Doručeno do redakce | Doručené do redakcie 6. 5. 2019

Accepted | Prijato po recenzii | Prijaté po recenzii 3. 6. 2019

Abstrakt

Vitamin K hraje důležitou roli nejen v krevní srážlivosti, ale i v regulaci mineralizace kostí a chrupavky. Ukazuje se, že pro muskuloskeletální zdraví je třeba vyšší denní dávky vitamínu K, než je v současnosti doporučováno, protože v současnosti doporučované dávky jsou optimalizovány pro vitamin K₁, ale jsou nedostačující pro vitamin K₂. Epidemiologické a observační studie ukázaly, že nízký obsah vitamínu K ve stravě a/nebo v séru je spjat s rizikem fraktur a s osteoartrózou u starší populace. Randomizované kontrolované intervenční studie zaměřené na suplementaci vitamínem K u kavkazoidní/evropoidní populace však nejsou přesvědčivé z hlediska nárůstu denzity kostního minerálu (BMD) podstatných oblastí zájmu. Při osteoporóze se jako účinná jeví kombinace vitamínu K a D. K potvrzení dosavadních pozorování jsou nezbytné dlouhodobé randomizované kontrolované klinické studie s velkým počtem subjektů a přesně určenými kritérii pro zdraví kostí a kloubů.

Klíčová slova: chrupavka – kost – osteoartróza – osteoporóza – vitamin K

Abstract

Vitamin K plays an important role not only in blood clotting, but also in the regulation of mineralization of bones and cartilage. It appears that vitamin K needs for musculoskeletal health are higher than currently recommended daily doses that are optimal for vitamin K₁ but suboptimal for vitamin K₂. Epidemiological and observational studies have shown that low vitamin K content in the diet and/or serum is associated with the risk of fracture and osteoarthritis in elderly. However, the randomized controlled intervention trials with vitamin K supplementation in Caucasian population are not convincing regarding the increase in bone mineral density at important regions of interest. Combination of vitamin K and D appears to be effective in osteoporosis. Long-term randomized controlled clinical trials with a large number of subjects and well-defined criteria for bone and joint health are required to confirm current observations.

Key words: bone – cartilage – osteoarthritis – osteoporosis – vitamin K

Úvod

Vitamin K je znám zejména jako faktor krevní srážlivosti, v organismu má však všestrannou úlohu. Pojem vitamin K zahrnuje celou skupinu vitamínů K. Mezi 3 hlavní

patří fylochinon (vitamin K₁), menachinony (vitaminy K₂, zkratka MK) a menadion – vitamin K₃. Vitamin K₁, podobně jako ostatní vitaminy skupiny K, obsahuje metylovaný naftochinonový kruh. Postranní řetězec vitamínu K₁

obsahuje 4 izoprenylové zbytky, z nichž 3 poslední jsou nasycené. Vitaminy skupiny K₂ (menachinony) mohou obsahovat i několik izoprenylových zbytků, které jsou všechny nenasycené. Vitaminy K₂ se dělí podle délky postranního řetězce na MK₁ až MK₁₃ [1]. Tyto vitaminy se liší nejen strukturou, ale i zastoupením v potravě: vitamin K₁ se vyskytuje především v zelených částech rostlin, bohatým zdrojem je např. špenát, brokolice, kapusta a zelí [2]. Vitaminy K₂ jsou obsaženy ve fermentovaných sýrech, játrech, másle a ve vaječném žloutku. Bohatým zdrojem je tradiční japonské jídlo natto, tj. fermentovaná sója (8–17 mg MK₇/kg). Vitaminy K₂ produkují i bakterie střevní mikroflóry, zejména vitaminy K₂ s delším postranním řetězcem MK₈ až MK₁₃ [3]. MK₄ je mezi menachinony výjimkou, netvoří se totiž ve střevech, ale vzniká z fylochinonu v některých tkáních s menadionem jako meziproduktem [4]. Předpokládá se, že ke štěpení fylochinonu na menadion a jeho redukci na hydrochinon dochází již v enterocytech.

Biologická dostupnost vitamínu K do značné míry závisí na potravinovém zdroji, ve kterém se vyskytuje. Například biologická dostupnost vitamínu K₁ ze syrového špenátu je 4%; ze špenátu konzumovaného s máslem může být 3krát vyšší [5]. Vitaminy K₂ jsou dostupné zejména v tukové frakci potravin a snadno se absorbují. Téměř 90 % příjmu vitamínu K z naší stravy představuje K₁. Menachinony přispívají ke stavu vitamínu K v organismu v menší míře. Čistá forma vitamínu, která je přítomná v suplementu nebo ve funkčních potravinách, se snadno absorbuje zejména v kombinaci s jídlem [6].

Intestinální absorpce vitamínu K je podobná absorpci jiných dietních lipidů. Po intestinální absorpci se vitaminy K inkorporují do lipoproteinů bohatých na triglyceridy a jsou transportovány do jater [7]. Část vitamínu K₁ zůstává v játrech a využije se na syntézu koagulačních faktorů. Zbytek vázaný na HDL-lipoproteiny a lipoproteiny bohaté na triacylglyceroly cirkuluje v krvi. Vitaminy K₂ se vážají na LDL- a VLDL-lipoproteiny, přetrvávají

v krvi déle než vitamin K₁, a jsou přístupnější pro periferní tkáň, jako jsou kosti, cévy, mozek, pankreas, prostata nebo plíce. Vitaminy K vstupují do buněk endocytózou prostřednictvím lipoproteinových receptorů. Osteoblasty mají receptory pro LDL- a VLDL-lipoproteiny. Různé transportní mechanismy pro K₁ a K₂ vysvětlují skutečnost, že v extrahepatálních tkáních jsou účinky K₂ mnohem výraznější než vitamínu K₁ [8].

Mechanismus a význam gama-karboxylace a recyklace vitamínu K

Vitamin K je nezbytný kofaktor enzymu gama-glutamyl karboxylázy zodpovědného za přeměnu peptidicky vázaného glutamátu na gama-karboxyglutamát v endoplazmatickém retikulu buněk [1]. Vitamin K se na karboxylaci účastní v redukované formě jako hydrochinon a po karboxylaci se nachází v oxidované formě jako epoxid vitamínu K (schéma 1). Recyklace epoxidu na hydrochinon vyžaduje účast dvou reduktáz, reduktázy epoxidu a reduktázy chinonu [1]. Strava neobsahuje dostatečné množství vitamínu K a jeho zásoby v organismu jsou malé. Pro obnovu vitamínu K je proto proces recyklace nezbytný. Warfarin jako antagonist vitamínu K inhibuje oba enzymy, reduktázu epoxidu i reduktázu chinonu, a interferuje tak s recyklací vitamínu K. Při posttranslační gama-karboxylaci proteinů vznikají tzv. Gla-proteiny, synonymicky označované jako vitamin K-dependní proteiny (VKDP). Vitamin K je kofaktorem při syntéze koagulačních faktorů II, VII, IX a X a protrombinu [7]. Syntéza těchto faktorů se uskutečňuje v játrech. Vzniklé gama-karboxylované glutamové zbytky účinněji chelatují vápník než samotné karboxylové zbytky kyseliny glutamové. Na význam vitamínu K pro hemostázu poukazuje skutečnost, že akutní nedostatek vitamínu K je život ohrožující v důsledku nadměrného krvácení. To vysvětluje, že u zdravé populace se všechny koagulační faktory syntetizují ve své aktivní formě, zatímco syntéza dalších Gla-proteinů je suboptimální [8].

Tab | Klasifikace Gla-proteinů podle funkce

hemostáza (prokoagulační aktivita)	protrombin, faktory VII, IX a X
hemostáza (antikoagulační aktivita)	proteiny C, S a Z
inhibice kalcifikace arterií, chrupavky	matrix Gla-protein (MGP)
metabolismus kostí	osteokalcin
regulace buněčného růstu	Growth-arrest sequence 6 protein (Gas6)
kostní novotvorba, regenerace tkání, invaze nádorů, hojení ran	periostin
protizánětlivý účinek, inhibice kalcifikace arterií, chrupavky	Gla-bohatý protein
neznámá funkce	periostinu podobný faktor
	4 transmembránové Gla-proteiny

Extrahepatální Gla-proteiny zahrnují osteokalcin, matrix Gla-protein (MGP) a růst zastavující faktor Gas6 (Growth-arrest sequence 6 protein), Gla-bohatý protein (Gla Rich Protein – GRP), které hrají klíčovou úlohu při mineralizaci kostí, inhibici vaskulární kalcifikace a regulaci růstu buněk [7,9] (schéma 2) a dále inhibitor koagulace protein S, jehož funkce v kostním metabolismu není přesně známa. Další Gla-protein periostin, exprimovaný osteoblasty i osteoklasty, má významnou úlohu při kostní novotvorbě, při regeneraci tkání jako jsou kosti, zuby, při invazi nádorů a hojení ran [10]. Celkem bylo popsáno 17 Gla-proteinů, funkce některých ještě nejsou známy (tab.). Při gama-karboxylaci extrahepatálních Gla-proteinů osteokalcinu (OC) a matrix Gla-proteinu (MGP) je účinnější vitamín K₂ (MK₇), který v oběhu přežívá mnohem déle než vitamín K₁ (graf). Biologický poločas K₁ a MK₄ v krvi je 1,5–4 hodiny, pro MK₇ až 3 dny a více, což znamená, že MK₇ je k dispozici extrahepatálním tkáním podstatně déle než vitamín K₁ a MK₄ [11].

Studie in vitro ukázaly, že vitamín K₂ může ovlivnit metabolismus kostí i jinou cestou, než je karboxylace. Vitamín K ovlivňuje diferenciaci a proliferaci osteoblastů. Inhibuje indukci apoptózy osteoblastů tím, že v závislosti na dávce inhibuje Fas-mediovanou vnější dráhu apoptózy [12]. Vitamín K₂ podporuje kostní formaci a potlačuje kostní resorpci stimulací exprese cytokinů, jako je osteoprotegerin (OPG) a inhibuje expresi ligandu pro aktivátor receptoru NFκB (RANKL), čímž zasahuje do diferenciaci a zrání osteoklastů, což vede k inhibici osteoresorpcí [12]. Menachinony jako ligandy se vážají na steroidní a xenobiotické receptory (SXR) a působí jako transkripční regulátory pro kostně specifické geny na osteoblastech a na uvol-

nění mediátorů [13]. Tyto mohou snížit osteoklasty vyvolanou resorpci, inhibovat osteoklastogenezi a podporovat osteoblastogenezi. Tyto výsledky ale zatím nebyly ověřeny u lidí.

Nedostatek vitamínu K

Nedostatek vitamínu K v organizmu se většinou posuzuje nepřímo měřením protrombinového času, příp. přítomností nedostatečně gama-karboxylovaných bílkovin jako je protrombin, osteokalcin anebo dekarboxylovaný MGP (ucMGP) a/nebo defosforylovaný a dekarboxylovaný MGP (dp-ucMGP) [14]. V současnosti se na přímou detekci vitamínu K v potravě anebo séru používá HPLC (vysoce účinná kapalinová chromatografie) metoda s fluorescenční, ultrafialovou anebo elektrochemickou detekcí [14]. Klapková et al [15] za použití HPLC metody s fluorescenční detekcí změřili u postmenopauzálních žen bez osteoporózy významně vyšší hladiny vitamínu K v séru v porovnání s pacienty s osteoporózou a osteopenií.

Je všeobecně akceptováno, že koagulační faktory jsou u zdravých lidí 100 % karboxylované, což je v ostrém kontrastu s extrahepatálními Gla-proteiny, jako jsou OC a MGP. Měření pomocí specifických protilátek proti OC a MGP ukázalo, že 20–30 % těchto proteinů je v oběhu přítomných v nekarboxylované, tj. neaktivní formě [8]. Až po suplementaci vitamínem K₁ > 1 mg/den nebo MK₇ 200 µg/den jsou extrahepatální Gla-proteiny téměř kompletně gama-karboxylované [16]. U starších lidí bez suplementace vitamínem K až 50 % sérového osteokalcinu zůstává v nedostatečně karboxylované formě (ucOC). Pokles saturace vitamínem K se může vyskytnout u některých chorob a užívání léků [17–19]. Deficit vitamínu K₁ je charakterizovaný krácením, někdy život ohrožujícím.

Schéma 1 | Cyklus vitamínu K. Prázdné šipky označují místa, na nichž zasahuje warfarin. Warfarin inhibuje reduktázu epoxidu a částečně i reduktázu chinonu vitamínu K

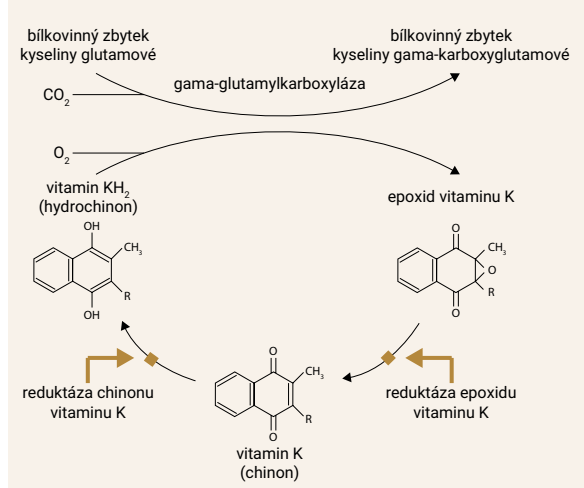
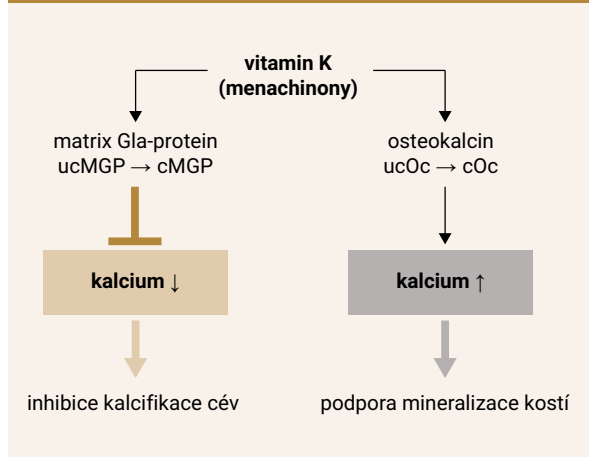


Schéma 2 | Působení menachinonů na kalcifikaci cévních stěn a mineralizaci kostí. Upraveno podle [22]



Stavy a choroby spojené s nedostatkem vitamínu K:

- malnutrice, restriční dieta, poruchy absorpce tuků
- Crohnova choroba, ulcerózní kolitida, celiakie a jiné choroby spojené s nedostatečnou absorpcí živin a tuků
- choroby pankreatu a ledvin
- choroby jater, které interferují s uchováváním vitamínu K
- užívání léků jako širokospektrá antibiotika (cefalosporiny), antikoagulancia, antikonvulzíva, hypolipidemika a aspirin
- užívání doplňků stravy s vitamínem E

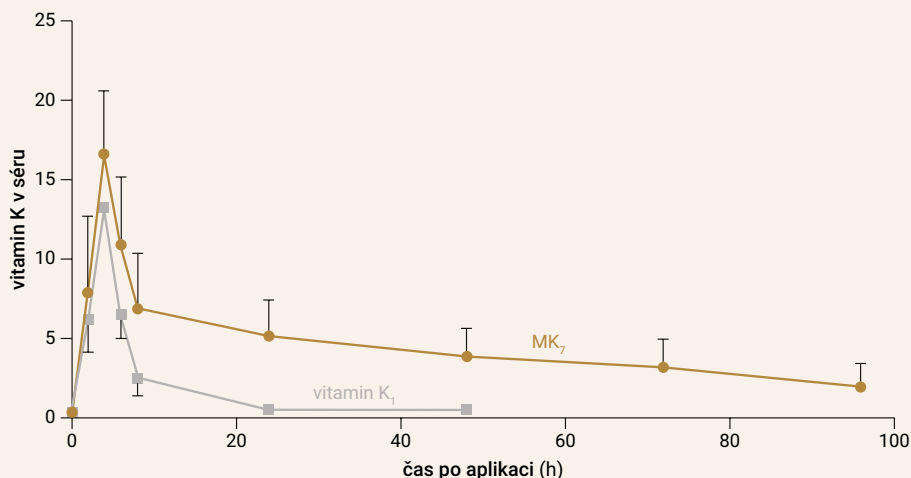
Doporučený příjem vitamínu K

Údaje o doporučeném příjmu vitamínu K nejsou konzistentní. Např. v USA a Kanadě se jedná o 120 µg/den pro muže a 90 µg/den pro ženy, v Itálii podle věku je doporučená dávka do 59 let 140 µg/den, od 60 let 170 µg/den a ve Velké Británii 1 µg/kg tělesné hmotnosti [14]. Doporučený příjem vitamínu K podle Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (European Food Safety Agency – EFSA) z roku 2017 je 70 µg/den [20]. Jsou to dávky zajišťující dostatečný příjem vitamínu K₁, ale z hlediska přísunu vitamínu K₂ suboptimální. V Japonsku podle doporučení pro prevenci a léčbu osteoporózy se doporučuje dávka vitamínu K 250–300 µg/den a 45 mg MK₄ [21], což představuje výjimku, protože doporučený příjem vitamínu K₂ většinou nebývá stanoven. Přehledný článek Gröbera et al se vyjadřuje k suplementaci ve formě MK₇ v dávkě 0,5–1,0 µg/kg v preventivní, resp. 2–4 µg/kg tělesné hmotnosti v terapeutické indikaci [22]. Uvedené doporučené dávky je žádoucí interpretovat v kontextu skutečnosti, že převažující formou ve stravě je v USA a Evropě vitamin K₁, zatímco v Japonsku převládají menachinony, zejména MK₇, původem z bakteriálně fermentované sóji.

Vitamin K a osteokalcin

Vitamin K je esenciální pro gama-karboxylaci osteokalcinu. Osteokalcin (OC) je malá bílkovina (5,3 kDa) syntetizovaná výhradně osteoblasty, odontoblasty a v malém množství i hypertrofickými chondrocyty [23]. OC obsahuje 3 gama-karboxylované glutamové zbytky zodpovědné za afinitu OC ke krystalům hydroxyapatitu. OC je maximálně exprimován během mineralizace osteoidu a na tomto procesu se podílí. Většina OC se po uvolnění z osteoblastů inkorporuje do extracelulární matrix, v níž tvoří přibližně 15 % všech nekolagenních bílkovin. Zbytek nově syntetizovaného OC se uvolňuje do krevního oběhu, v němž jej lze kvantitativně stanovit. Syntézu OC zvyšuje kalcitriol a vitamin A a snižují ji glukokortikoidy. Myši s knokautovaným genem pro OC mineralizují kost podobně jako myši, kterým tento gen nechybí, ale ukládání minerálu je u nich organizováno jiným způsobem. OC je tedy schopen kontrolovat tvar a rozměry krystalů a je důležitý pro funkční kvalitu kostí [24]. U myši s knokautovaným osteokalcinem se vyvine rovněž hyperostóza, což opět potvrzuje, že osteokalcin je nezbytný pro normální mineralizaci kostí [25]. Nadměrná kalcifikace a poruchy tvorby skeletu byly pozorovány u třetiny novorozenců matek, které byly během těhotenství léčené antagonistou vitamínu K, warfarinem [26]. Kostní matrix obsahuje i další Gla-proteiny, jako je matrix Gla-protein, Gas6 i protein S. Matrix Gla-protein je spojován s kostní organickou matrix a mobilizací kalcia, chrání měkké tkáně a chrupavku před kalcifikací a podporuje normální růst a vývoj kostí. Antikoagulační faktor S syntetizují osteoblasty, ale jeho přesná funkce není známá. Nedostatečný příjem vitamínu K je spojován se sníženou koncentrací vitamínu K v krvi, zvýšenou koncentrací nedostatečně karboxylovaného osteo-

Graf | Hladiny vitamínů K₁ a K₂ v séru po jejich aplikaci. Upraveno podle [11]



kalcinu (undercarboxylated osteocalcin – ucOC) a se zvýšeným rizikem zlomenin [27]. Suplementace vitamínem K zvyšuje poměr mezi celkovým OC a uOC v krvi. Důležitý je poměr ucOC/OC, protože celkový osteokalcin je markerem osteoformace a jeho tvorba odráží aktivitu osteoblastů nezávisle na posttranslační modifikaci za přítomnosti vitamínu K. Zvýšený výskyt ucOC svědčí o sníženém množství vitamínu K v kostech [28]. Suplementace vitamínem K₂ zvyšuje účinněji koncentraci karboxylovaného OC a extrahepatální množství vitamínu K ve srovnání s vitamínem K₁ [29].

Vitamin K a osteoporóza

Osteoporóza je systémové metabolické onemocnění skeletu, charakterizované nižším množstvím kostní hmoty a narušením mikroarchitektury kosti, což je příčinou zvýšené fragility kostí, zvýšeného rizika zlomenin již při minimálním traumatu [30]. Fraktury, vlastní klinická manifestace osteoporózy, mohou vést k sociální závislosti, invalidizaci, nebo dokonce úmrtí. Z klinického hlediska je proto podstatný účinek vitamínu K na riziko zlomenin. Mnoho prací bylo věnováno stanovení nefunkčního nedostatečně karboxylovaného osteokalcinu (ucOC). Vyšší koncentrace ucOC, přesněji poměr ucOC/OC indikují nízký stav vitamínu K v organizmu i kostní tkáni [31]. Epidemiologické studie vycházejí z měření vitamínu K ve stravě, v cirkulaci nebo z měření koncentrace ucOC v séru. Tyto práce popisují spojení mezi nedostatkem vitamínu K a vyšším rizikem zlomeniny proximálního femuru a nižší hodnotou BMD u dospělých [32–35].

V posledních letech bylo provedeno několik klinických studií testujících hypotézu, že suplementace vitamínem K zpomaluje progresi úbytku kostní hmoty u zdravých postmenopauzálních žen a u žen s osteopenií či osteoporózou. Několik studií zkoumalo změny BMD proximálního femuru a ucOC v krvi mezi skupinou suplementovanou vápníkem, vitamínem D a fylochinonem a skupinou, která dostávala pouze vápník a vitamin D [36,37]. V těchto studiích bylo pozorováno snížení ucOC, ale téměř žádný rozdíl ve změně BMD a geometrie proximálního femuru ve skupině s fylochinonem. Pouze Braam et al [38] pozorovali u postmenopauzálních žen mírnější pokles denzity kostního minerálu (Bone Mineral Density – BMD) proximálního femuru, ale nikoliv bederní páteře. Riziko zlomenin nebylo primárním cílem těchto studií, avšak ve studii ECKO o trvání 2–4 let byl pozorován pokles všech zlomenin u žen s postmenopauzální osteopenií při užívání 5 mg fylochinonu denně [39]. Snížení výskytu osteoporotických zlomenin však nebylo statisticky průkazné. Studie s fylochinonem byly velmi heterogenní z hlediska dávky fylochinonu, věkového rozpětí pacientů i délky trvání studií. Nebyly pozorovány žádné pozitivní změny markerů

kostního metabolismu, kostní alkalické fosfatázy, NTX (N-terminální telopeptid kolagenu typu I) v séru nebo moči.

Několik intervenčních studií s MK₄ se uskutečnilo v Japonsku a Číně. Dávku MK₄ 45 mg/den si japonští autoři vybrali na základě testování různých dávek jako nejnižší účinnou dávku [40]. Ministerstvem zdravotí, práce a péče je v Japonsku schválen jako antiosteoporotický lék menatetrenon, syntetický vitamin K₂ (MK₄). Tato dávka je 150krát až 180krát vyšší než doporučená denní dávka vitamínu K a je ve stravě nedosažitelná. Možným nežádoucím účinkem je nauzea a průjem, nebyly ale pozorovány žádné toxické účinky. Randomizovanou, otevřenou klinickou studii uskutečněnou v Japonsku publikovali Shiraki et al [41]. Do studie bylo zařazeno 120 pacientů s osteoporózou léčených menatetrenonem (MK₄, 45 mg/den) a 121 kontrol bez léčby. Léčba trvala 24 měsíců. Výsledky ukázaly, že MK₄ účinně snižuje incidenci fraktur. Systematický přehled a metaanalýza 7 randomizovaných klinických studií trvajících déle než 6 měsíců u japonských dospělých pacientů Cockayne et al [42] konstatovala, že vitamin K₂ (MK₄ v dávce 45 mg/den) snižuje incidenci vertebrálních i nevertebrálních fraktur včetně zlomenin proximálního femuru. Další metaanalýzy [43,44] ukázaly pouze mírný vliv na BMD a snížení incidence fraktur, přičemž ovlivněny byly zejména zlomeniny obratlových těl. MK₄ významně snižuje ucOC a zvyšuje OC, avšak výsledky týkající se dalších markerů kostní remodelace (kostní ALP, NTX, močové markery) jsou nekonzistentní. Velkou metaanalýzu 19 randomizovaných, kontrolovaných studií s vitamínem K₂ publikovali v r. 2015 Huang et al [45]. Ve studiích sledovali změny ucOC, BMD a výskyt fraktur. Podle autorů výsledky této metaanalýzy podporují hypotézu, že vitamin K₂ hraje pozitivní roli při udržení/zvýšení BMD páteře a prevenci fraktur u postmenopauzálních žen s osteoporózou. Účinek vitamínu K₂ u postmenopauzálních žen bez osteoporózy však pozorován nebyl. Soubor této metaanalýzy však byl velmi heterogenní, velká část studií byla prováděna s MK₄, pouze 4 z 19 studií byly provedeny s MK₇. V některých studiích byl navíc sledován jen přídatný efekt vitamínu K vůči kontrolní skupině s kalcielem a vitamínem D. Přestože na velkých souborech pacientů se může pozitivní vliv vitamínu K₂ na BMD projevit, denzita kostního minerálu zjevně není nejvhodnějším ukazatelem vlivu vitamínu K na kost. Spíše se ukazuje, že vitamin K₂ pozitivně ovlivňuje geometrii kosti a parametry její pevnosti tak, jak bylo prokázáno na krčku kosti stehenní [46].

Další intervenční klinické studie se prováděly s MK₇, který je déle dostupný v cirkulaci a ve srovnání s MK₄ má vyšší biologickou dostupnost. Randomizovaná dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná, 12 měsíců trvající studie na souboru norských postmenopauzálních žen, které

užívaly kapsle s obsahem natto 360 µg/den (bohaté na MK₇) nenalezla žádný vliv BMD [47]. Naopak, placebem kontrolovaná studie s poloviční dávkou MK₇ (180 µg/den) na souboru 244 postmenopauzálních zdravých holandských žen po 3 letech vedla v léčené skupině k průkazně vyšším hodnotám BMD krčku femoru i bederní páteře [48]; BMD celkového proximálního femoru nebyla významně ovlivněna.

Přes velký počet studií, které se uskutečnily s vitamínem K₁ a K₂, důkazy stále nejsou dostatečně přesvědčivé z hlediska vlivu vitamínu K na parametry kosti. Observační studie ukazují, že strava chudá na vitamín K je spojená s rizikem fraktur a nižší denzitou kostního minerálu. Výsledky intervenčních randomizovaných kontrolovaných studií jsou z hlediska klinicky významného zvýšení BMD podstatných míst skeletu víceméně nekonzistentní. K potvrzení dosavadních pozorování jsou nezbytné dlouhodobé randomizované kontrolované klinické studie s velkým počtem subjektů s přesně definovanými kritérii.

Kombinovaná terapie vitamínu D a K

Kromě nedostatku vitamínu K v populaci převažuje v různém stupni i deficit vitamínu D. Jako účinná se v terapii osteoporózy ukazuje kombinovaná terapie vitamínu K₂ a D₃ a ve zvířecím modelu i kombinace vitamínu K s bisfosfonáty [49]. Podle sdělení Je SH et al [50] suplementace vitamínem D, vápníkem a vitamínem K₂ redukovala ucOC a zvyšovala BMD bederní páteře u korejských žen starších 60 let. Zvýšení BMD po aplikaci vápníku, vitamínu D a vitamínu K₂ (MK₄) popsali i Iwamoto et al [51]. Tato kombinace brání úbytku kostní hmoty i u pacientů s chronickou glomerulonefritidou léčených glukokortikoidy [52,53]. Ve velké a dlouhodobé (trvání 8,2 roku) populační studii NOREPOS (Norwegian Epidemiologic Osteoporosis Studies) prováděné v Norsku, v jejímž rámci byla u 2 408 starších dospělých stanovena sérová koncentrace 25 OHD a vitamínu K₁, se potvrdil předpoklad, že nízká koncentrace obou vitamínů je spojena s vyšším rizikem zlomeniny proximálního femoru (50% zvýšení rizika u pacientek s kombinovaným deficitem ve srovnání s jedinci z nejvyššího kvartilu koncentrací obou vitamínů) [54]. Van Ballegooijenová et al [55] v souhrnné práci shrnuli observační i intervenční studie, s kombinací vitamínů D a K a hodnotili synergický účinek těchto vitamínů na kost a kardiovaskulární zdraví. Intervenční studie (12 studií), se uskutečnily s vitamínem K₁ nebo MK₄. Většina těchto studií uvádí zvýšení BMD na různých místech skeletu s kombinovanou terapií vitamínu K a D nebo kalciiem v kombinaci s vitamínem K a D. Příznivý efekt kombinace vitamínů K a D dokazují jak experimenty na zvířatech, tak i experimenty in vitro. Inhibice úbytku kostní hmoty u ova-

riektomovaných potkaních samic se projevila pouze po aplikaci kombinované terapie vitamínu K a D, nikoliv po aplikaci samotného vitamínu K [56]. In vitro je specifická exprese OC osteoblasty na transkripční úrovni kontrolována kalcitriolem – 1,25(OH)D₃ [57]. Spojení vitamínu K a D stimuluje diferenciaci osteoblastů pocházejících z lidských kmenových buněk in vitro [58]. Když se shrnou výsledky studií na zvířatech a na lidech, lze konstatovat, že vitamíny D i K jsou potřebné pro kost i kardiovaskulární zdraví, což potvrzují molekulární, buněčné a některé humánní studie [55]. Širšímu použití této kombinaci však brání skutečnost, že zatím není stanovena denní doporučená dávka pro vitamín K₂ (MK₇), resp. dávka vhodná k suplementaci.

Vitamin K při osteoartróze a revmatoidní artritidě

Osteoartróza (OA) je onemocnění kloubních struktur, charakterizované ztrátou chrupavky a její sníženou kvalitou, kostními změnami subchondrálně a na okrajích kloubních ploch, zánětlivými změnami a kalcifikací extracelulární tkáně [59]. Vitamin K ovlivňuje nejen mineralizaci kostní, ale i chrupavčité tkáně. Ve zvířecích modelech je nedostatek karboxylovaných forem kostních a chrupavkových Gla-proteinů (OC, MGP) spojen s nevhodnou mineralizací chrupavky, hypertrofickými chondrocyty, apoptotickými chondrocyty a endochondriální osifikací [60]. Chondrocyty ze zdravé i osteoartrótické chrupavky produkují MGP, z artrótické chrupavky však přednostně nedostatečně karboxylovaný, nefunkční MGP, což může být součástí patologického procesu v chrupavce. Riziko osteoartrózy kloubů rukou podmiňuje i genetický polymorfismus MGP [61]. Gla-bohatý protein (GRP) je novější člen skupiny VKDP, který působí jako inhibitor kalcifikace kardiovaskulárních struktur a tkání kloubu [62]. Infiltrace monocytů a akumulace makrofágů jsou častým jevem při osteoartróze. GRP působí protizánětlivě inhibicí aktivace prozánětlivých cytokinů buněk monocyto-makrofágové linie (TNFα, IL1β a NFκB) a je určitým pojítkem mezi zánětem a kalcifikací. Několik humánních studií rovněž potvrdilo spojitost mezi nedostatkem vitamínu K a osteoartrózou. Analýza výsledků prospektivní observační studie Framingham Offspring Study podpořila spojitost mezi nízkou hladinou K₁ v plazmě (K₁ < 0,5 nM a zvýšeným výskytem OA kloubů rukou a kolen [63]. K podobnému závěru dospěli i japonská autoři v populační observační studii u starších japonských žen [64]. Randomizovaná, kontrolovaná studie u starších lidí ve věku 60–80 let sledovala účinek vitamínu K₁ (500 µg) v multivitaminovém komplexu na osteoartrózu rukou [65]. Nebyl zjištěn žádný přídatný efekt vitamínu K₁ na radiografické parametry osteoartrózy kloubů rukou. Avšak dodatečná analýza u lidí, kteří měli

sníženou koncentrací K_1 v plazmě na začátku studie ≤ 1 nM/l a po léčbě dosáhli dostatečné koncentrace (> 1 nM/l), ukázala menší trend k radiografickému zúžení kloubní štěrbin. Misra et al [66] v longitudinální 30měsíční multicentrické, observační studii sledovali 1 180 pacientů ve věku 50–79 let se subklinickou koncentrací vitamínu K ($K_1 < 0,5$ nM v plazmě). Výsledky ukázaly, že nedostatek vitamínu K je spjat s vyšším rizikem vývoje radiografické osteoartrózy kolene a lézí chrupavky zjištěných při vyšetření magnetickou rezonancí. Na základě těchto studií se předpokládá, že subklinický deficit vitamínu K může hrát určitou úlohu v patogenezi OA, zejména z hlediska vývoje osteofytů a zúžení kloubní štěrbin a v konečném důsledku v celkové ztrátě chrupavky [66].

Vitamin K byl testován i u pacientů s revmatoidní artritidou (RA). Aplikace vitamínu K_2 (MK_2 , 45 mg/den) jako doplňující léčby k základní terapii u pacientů s RA s koncentrací ucOC vyšší než 4,5 ng/ml v séru snížila laboratorní parametry aktivity RA i skóre aktivity choroby (DAS-28-CRP) [67]. V průřezové klinické studii, v níž jedna skupina pacientů s RA dostávala po dobu 3 měsíců kromě základní terapie i 100 μ g/den MK_7 , kromě klinické aktivity choroby (DAS28-ESR) významně poklesly i biochemické ukazatele ucOC, CRP a matrix-metaloproteináza-3 (MMP-3) [68]. Vitamin K se ukazuje jako slibné adjuvans k základní léčbě RA.

Vitamin K a warfarin

Na význam vitamínu K při osteoporóze a vaskulární kalcifikaci ukazují i patologické následky dlouhodobé aplikace antagonistů vitamínu K - kumarinů (warfarin a jeho deriváty). Kumariny inhibují recyklaci vitamínu K inhibicí reductázy epoxidu a částečně i reductázy chinonu vitamínu K (schéma 1). Snižují tak nejen karboxylaci vitamínu K – dependentních koagulačních faktorů v játrech, ale i periferních Gla-proteinů. Dlouhodobá antikoagulační léčba kumariny může být spjata s úbytkem kostní hmoty, rizikem vaskulárních kalcifikací a kalcifikací chrupavčitých tkání a netraumatickými zlomeninami [11]. Novější antikoagulační léky jako dabigatran, rivaroxaban a apixaban (NOACs) nejsou závislé na vitamínu K, což uvolňuje pole potenciálního užití vitamínu K v prevenci aterosklerózy, osteoporózy a osteoartrózy. Pacienti, kteří užívají warfarin, by neměli užívat dávky MK_7 vyšší než 50 μ g/den [11].

Toxicita a bezpečnost vysokých dávek vitamínu K

O toxicitě vitamínu K_1 a menachinonů nejsou k dispozici žádné údaje. Pokusy na zvířatech ukázaly, že syntetický MK_7 aplikovaný perorálně v jednorázové dávce 2 000 mg/kg anebo v dávce 10 mg/kg denně během

90 dní nevyvolá žádnou toxicitu, a to včetně hyperkoagulačních stavů. Vitamin K – dependentní proteiny mají omezené množství glutamových zbytků, které se mohou karboxylovat a další karboxylace není možná. U zvířat ani MK_4 v dávce 250 mg/kg nezvyšuje riziko trombózy [69]. U dialyzovaných pacientů MK_7 aplikovaný v dávce 360 μ g/den během 6 týdnů nezvyšoval aktivitu endogenního trombinu ani riziko trombózy [70]. MK_7 však dávce vyšší než 50 μ g/den může interferovat s perorální antikoagulační léčbou. V Japonsku, kde se MK_4 rutinně používá v léčbě osteoporózy v dávce 45 mg/den, nebyly zaznamenány žádné toxické účinky. Fermentovaná sója patří mezi tamní běžné potraviny a ani dlouhodobý denní příjem MK_7 v dávce 700–1 000 μ g nevykazuje nežádoucí účinky. Předpokládá se naopak, že takto vysoký příjem vitamínu K_2 je jednou z příčin nižšího výskytu kardiovaskulárních onemocnění a osteoporózy v této populaci.

Závěr

V posledních desetiletích se obsah vitamínu K v stravě snižuje, zejména kvůli snížené konzumaci listové zeleniny a paralelně s tím roste i podíl nefunkčních Gla-proteinů jako jsou OC a MGP. U starší populace je, v důsledku celkově nižšího příjmu potravy a jeho klesající intestinální absorpce, dostupnost vitamínu K ještě nižší. Většina seniorů kromě nedostatku vitamínu K trpí i nedostatkem vitamínu D. Suplementace vitamínem D zároveň s vitamínem K_2 (MK_2) může proto u nemocných a starších lidí bez dostatečného příjmu vitamínu K a D ve stravě snížit riziko výskytu osteoporózy, osteoartrózy i kardiovaskulárních chorob. Širšímu uplatnění vitamínu K_2 (MK_2) brání skutečnost, že dosud není určena denní doporučená dávka a v souvislosti s tím ani dávka vhodná k suplementaci.

Literatura

1. Shearer MJ, Newman P. Metabolism and cell biology of vitamin K. *Thromb Haemost* 2008; 100(4): 530–547.
2. Booth SL, Suttie JW. Dietary intake and adequacy of vitamin K. *J Nutr* 1998; 128(5): 785–788. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/jn/128.5.785>.
3. Shearer MJ, Xueyan F, Booth SL. Vitamin K nutrition, metabolism, and requirements: current concepts and future research. *Adv Nutr* 2012; 3(2): 182–195. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.3945/an.111.001800>.
4. Hirota Y, Tsugawa N, Nakagawa K et al. Menadione (vitamin K3) is a catabolic product of oral phyloquinone (vitamin K1) in the intestine and a circulating precursor of tissue menaquinone-4 (vitamin K2) in rats. *J Biol Chem* 2013; 288(46): 33071–33080. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M113.477356>.
5. Schugers LJ, Vermeer C. Determination of phyloquinone and menaquinones in food: effect of food matrix on circulating vitamin K concentrations. *Haemostasis* 2000; 30(6): 298–307. Dostupné z DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000054147>.
6. Beulens JWJ, Booth SL, van den Heuvel EGHM et al. The role of menaquinones (vitamin K2) in human health. *Br J Nutrition* 2013;

- 110(8): 1357–1368. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1017/S0007114513001013>>.
7. Shearer MJ, Xueyan F, Booth SL. Vitamin K nutrition, metabolism, and requirements: current concepts and future research. *Adv Nutr* 2012; 3(2): 182–195. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3945/an.111.001800>>.
 8. Vermeer C. Vitamin K: the effect on health beyond coagulation – an overview. *Food Nutr Res* 2012; 56. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3402/fnr.v56i0.5329>>.
 9. Wen L, Chen J, Duan L, Li S. Vitamin K-dependent proteins involved in bone and cardiovascular health (Review). *Mol Med Rep* 2018; 18(1): 3–15. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3892/mmr.2018.8940>>.
 10. Merle B, Garnerio P. The multiple facets of periostin in bone metabolism. *Osteoporosis Int* 2012; 23(4): 1199–1212. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00198-011-1892-7>>.
 11. Schurgers LJ, Teunissen KJ, Hamulyák K et al. Vitamin K-containing dietary supplements: comparison of synthetic vitamin K1 and natto-derived menaquinone-7. *Blood* 2007; 109(8): 3279–3283. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1182/blood-2006-08-040709>>.
 12. Koshihara Y, Hoshi K, Okawara R et al. Vitamin K stimulates osteoblastogenesis and inhibits osteoclastogenesis in human bone marrow cell culture. *J Endocrinology* 2003; 176(3): 339–348.
 13. Tabb MM, Sun A, Zhou C et al. Vitamin K2 regulation of bone homeostasis is mediated by the steroid and xenobiotic receptor SXR. *J Biol Chem* 2003; 278(45): 43919–43927. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M303136200>>.
 14. Fusaro M, Gallieni M, Rizzo MA et al. Vitamin K plasma levels determination in human health. *Clin Chem Lab Med* 2017; 55(6): 789–799. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1515/ccclm-2016-0783>>.
 15. Klapkova E, Cepova J, Dunovska K et al. Determination of vitamins K1, MK4, and MK7 in human serum of postmenopausal women by HPLC with fluorescence detection. *J Clin Lab Anal* 2018; 32(5): e22381. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1002/jcla.22381>>.
 16. Binkley NC, Krueger DC, Kawahara TN et al. A high phyloquinone intake is required to achieve maximal osteocalcin gamma-carboxylation. *Am J Clin Nutr* 2002; 76(5): 1055–1060. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1093/ajcn/76.5.1055>>.
 17. Gunberg CM, Nieman SD, Abrams S et al. Vitamin K status and bone health: an analysis of methods for determination of undercarboxylated osteocalcin. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83(9): 3258–3266. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1210/jcem.83.9.5126>>.
 18. Schwalfenberg GK. Vitamin K1 and K2: The emerging group vitamins required for human health. *J Nutr Metab* 2017; 2017: 6254836. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1155/2017/6254836>>.
 19. Traber MG. Vitamin E and K interactions – a 50 year-old problem. *Nutr Rev* 2008; 66(11): 624–629. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1753-4887.2008.00123.x>>.
 20. Turck D, Breson JL, Burlingame B et al. Dietary reference values for vitamin K. *EFSA J* 2017; 15(5): e04780. Dostupné z DOI: <<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4780>>.
 21. Orimo H, Nakumara T, Hosoi T et al. Japanese 2011 guidelines for prevention and treatment of osteoporosis – executive summary. *Arch Osteoporos* 2012; 7: 3–20. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11657-012-0109-9>>.
 22. Gröber U, Reichrath J, Holick MF et al. Vitamin K: an old vitamin in a new perspective. *Dermato-Endocrinology* 2014; 6(1): e968490. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.4161/19381972.2014.968490>>.
 23. Štěpán J. Význam vitamínu K pro kvalitu kosti a pro kalcifikované tkáně. *Prakt Lék* 2005; 85(6): 326–330.
 24. Boskey AL, Gadaleta S, Gundberg C et al. Fourier transform infrared microspectroscopic analysis of bones of osteocalcin-deficient mice provides insight into the function of osteocalcin. *Bone* 1998; 23(3): 187–196.
 25. Iwamoto J, Takeda T, Sato Y. Effects of vitamin K2 on osteoporosis. *Curr Pharm Des* 2004; 10(21): 2557–2576.
 26. Pettifor JM, Benson R. Congenital malformations associated with the administration of oral anticoagulants during pregnancy. *J Pediatr* 1975; 86(3): 459–462.
 27. Booth SL, Tucker KL, Chen H et al. Dietary vitamin K intakes are associated with hip fracture but not with bone mineral density in elderly men and women. *Am J Clin Nutr* 2000; 71(5): 1201–1208. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1093/ajcn/71.5.1201>>.
 28. Price PA, Parthemore JG, Deftos LJ. New biochemical marker for bone metabolism. Measurement by radioimmunoassay of bone GLA protein in the plasma of normal subjects and patients with bone disease. *J Clin Invest* 1980; 66(5): 878–883. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1172/JCI109954>>.
 29. Vermeer C. Vitamin K: the effect on health beyond coagulation – an overview. *Food Nutr Res* 2012; 56. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3402/fnr.v56i0.5329>>.
 30. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Group. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1994; 843: 1–129.
 31. Stančíková M, Rovenský J, Stančík R. Význam vitamínu K pri osteoporóze a kardiovaskulárnych ochoreniach. *Int Medicina* 2015; 15(2): 103–108.
 32. Kaneki M, Hodges SJ, Hosoi T et al. Japanese fermented soybean food as the major determinant of the large geographic difference in circulating levels of vitamin K2: possible implications for hip-fracture risk. *Nutrition* 2001; 17(4): 315–321. Erratum in *Nutrition* 2006; 22(10): 1075. Hodges SJ [corrected to Hodges, S J].
 33. Leukinen H, Kakonen SM, Pettersson K et al. Strong prediction of fractures among older adults by the ratio of carboxylated to total serum osteocalcin. *J Bone Miner Res* 2000; 15(12): 2473–2478. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1359/jbmr.2000.15.12.2473>>.
 34. Sugiyama T, Kawai S. Carboxylation of osteocalcin may be related to bone quality: a possible mechanism of bone fracture prevention by vitamin K. *J Bone Miner Metab* 2001; 19(3): 146–149.
 35. Feskanich D, Weber P, Willett WC et al. Vitamin K intake and hip fractures in women: a prospective study. *Am J Clin Nutr* 1999; 69(1): 74–79. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1093/ajcn/69.1.74>>.
 36. Bolton-Smith C, McMurdo MET, Paterson CR et al. Two-year randomized controlled trial of vitamin K1 (phylloquinone) and vitamin D3 plus calcium on the bone health of older women. *J Bone Miner Res* 2007; 22(4): 509–519. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1359/jbmr.070116>>.
 37. Booth SL, Dallal G, Shea MK et al. Effect of vitamin K supplementation on bone loss in elderly men and women. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(4): 1217–1223. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1210/jc.2007-2490>>.
 38. Braam LA, Knapen MH, Geusens P et al. Vitamin K1 supplementation retards bone loss in postmenopausal women between 50 and 60 years of age. *Calcif Tissue Int* 2003; 73(1): 21–26.
 39. Cheung AM, Tile L, Lee Y et al. Vitamin K supplementation in postmenopausal women with osteopenia (ECKO trial): a randomized controlled trial. *PLoS Med* 2008; 5(10): e196. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.0050196>>. Erratum in *PLoS Med* 2008; 5(12): e247.
 40. Orimo H, Fujita T, Onomura T et al. Clinical evaluation of Ea-0167 (Menatetrenone) in the treatment of osteoporosis. *Clin Eval (Tokyo)* 1992; 20(1): 45–100.
 41. Shiraki M, Shiraki Y, Aoki C et al. Vitamin K2 (menatetrenone) effectively prevents fractures and sustains lumbar bone mineral density in osteoporosis. *J Bone Miner Res* 2000; 15(3): 515–521. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1359/jbmr.2000.15.3.515>>.
 42. Cockayne S, Adamson J, Lanham-New S et al. Vitamin K and the prevention of fractures: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med* 2006; 166(12): 1256–1261. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1001/archinte.166.12.1256>>. Erratum in *Caution of Conclusions of a Meta-analysis Including Problematic Trials*. [JAMA Intern Med 2018].
 43. Fang Y, Hu C, Tao X et al. Effect of vitamin K on bone mineral density: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Bone Miner Metab* 2012; 30(1): 60–68. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00774-011-0287-3>>.
 44. Iwamoto J. Vitamin K2 therapy for postmenopausal osteoporosis. *Nutrients* 2014; 6(5): 1971–1980. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3390/nu6051971>>.

45. Huang ZB, Wan SL, Lu YJ et al. Does vitamin K2 play a role in the prevention and treatment of osteoporosis for postmenopausal women: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Osteoporos Int* 2015; 26(3): 1175–1186. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00198-014-2989-6>>.
46. Knapen MH, Schurgers LJ, Vermeer C. Vitamin K2 supplementation improves hip bone geometry and bone strength indices in postmenopausal women. *Osteoporos Int* 2007; 18(7): 963–972. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00198-007-0337-9>>.
47. Emaus N, Gjesdal CG, Almås B et al. Vitamin K2 supplementation does not influence bone loss in early menopausal women: a randomised double-blind placebo-controlled trial. *Osteoporos Int* 2010; 21(10): 1731–1740. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00198-009-1126-4>>.
48. Knapen MH, Drummen ME, Smit E et al. Three-year low-dose menaquinone-7 supplementation helps decrease bone loss in healthy postmenopausal women. *Osteoporos Int* 2013; 24(9): 2499–2507. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00198-013-2325-6>>.
49. Sasaki H, Miyakoshi N, Kasukawa Y et al. Effect of combination treatment with alendronate and vitamin K(2) on bone mineral density and strength in ovariectomized mice. *J Bone Miner Metab* 2010; 28(4): 403–409. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00774-009-0148-5>>.
50. Je SH, Joo NS, Choi BH et al. Vitamin K supplementation along with vitamin D and calcium reduced serum concentration of undercarboxylated osteocalcin while increasing bone mineral density in Korean postmenopausal women over sixty-years-old. *J Korean Med Sci* 2011; 26(8): 1093–1098. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3346/jkms.2011.26.8.1093>>.
51. Iwamoto J, Zakeda T, Ichimura S. Effect of combined administration of vitamin D3 and vitamin K2 on bone mineral density of the lumbar spine in postmenopausal women with osteoporosis. *J Orthop Sci* 2000; 5(6): 546–551.
52. Yonemura K, Kimura M, Miyaji T et al. Short-term effect of vitamin K administration on prednisolone-induced loss of bone mineral density in patients with chronic glomerulonephritis. *Calcif Tissue Int* 2000; 66(2): 123–128.
53. Inoue T, Sugiyama T, Matsubara T et al. Inverse correlation between the changes of lumbar bone mineral density and serum undercarboxylated osteocalcin after vitamin K2 (menatetrenone) treatment in children treated with glucocorticoid and alfacalcidol. *Endocr J* 2001; 48(1): 11–18.
54. Finnes TE, Lofthus CM, Meyer HE et al. A combination of low serum concentration of vitamin K1 and D is associated with increased risk of hip fractures in elderly Norwegians: a NOREPOS study. *Osteoporos Int* 2016; 27(4): 1645–1652. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00198-015-3435-0>>.
55. Van Ballegoijen AJ, Pilz S, Tomasz A et al. The synergistic interplay between vitamins D and K for bone and cardiovascular health: A narrative review. *Int J Endocrinology* 2017; 2017: 7454376. Dostupné z DOI: <<https://doi.org/10.1155/2017/7454376>>.
56. Matsunaga S, Ito H, Sakou T. The effect of vitamin K and D supplementation on ovariectomy-induced bone loss. *Calcified Tissue Int* 1999; 65(4): 285–289.
57. Kerner SA, Scott RA, Pike JW. Sequence elements in the human osteocalcin gene confer basal activation and inducible response to hormonal vitamin D3. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86(12): 4455–4459. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.86.12.4455>>.
58. Gigante A, Torciani M, Boldrini E et al. Vitamin K and D association stimulates in vitro osteoblast differentiation of fracture site derived human mesenchymal stem cells. *J Biol Regul Homeost Agents* 2008; 22(1): 35–44.
59. Hunter DJ. Imaging insight on the epidemiology and pathophysiology of osteoarthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 2009; 35(3): 447–471. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.rdc.2009.08.001>>.
60. Wallin R, Schurgers LJ, Loeser RF. Biosynthesis of the vitamin K-dependent matrix Gla protein (MGP) in chondrocytes: a fetuin-MGP protein complex is assembled in vesicles shed from normal but not from osteoarthritic chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage* 2010; 18(3): 1096–1103. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.joca.2010.05.013>>.
61. Misra D, Booth SL, Crosier MD et al. Matrix Gla protein polymorphism, but not concentrations, is associated with radiographic hand osteoarthritis. *J Rheumatol* 2011; 38(9): 1960–1965. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3899/jrheum.100985>>.
62. Cavaco S, Viegas CS, Rafael MS et al. Gla-rich protein is involved in the cross-talk between calcification and inflammation in osteoarthritis. *Cell Mol Life Sci* 2016; 73(5): 1051–1065. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00018-015-2033-9>>.
63. Shea MK, Kritchevsky SB, Nevitt M et al. The association between vitamin K status and knee osteoarthritis features in older adults: The Health, Aging and Body Composition Study. *Osteoarthritis Cartilage* 2015; 23(3): 370–378. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.joca.2014.12.008>>.
64. Oka H, Akune T, Muraki S et al. Association of low dietary vitamin K intake with radiographic knee osteoarthritis in the Japanese elderly population: dietary survey in a population-based cohort of the ROAD study. *J Orthop Sci* 2009; 14(6): 687–692. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00776-009-1395-y>>.
65. Naogi T, Felson DT, Sarno R et al. Vitamin K in hand osteoarthritis: results from randomised clinical trial. *Ann Rheum Dis* 2008; 67(11): 1570–1573. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1136/ard.2008.094771>>.
66. Misra D, Booth SL, Tolstykh I et al. Vitamin K deficiency is associated with incident knee osteoarthritis. *Am J Med* 2013; 126(3): 243–248. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.amjmed.2012.10.011>>.
67. Ebina K, Shi K, Hirao M et al. Vitamin K2 administration is associated with decreased disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol* 2013; 23(5): 1001–1007. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s10165-012-0789-4>>.
68. Abdel-Rahman MS, Alkady EAM, Ahmed S. Menaquinone-7 as a novel pharmacological therapy in the treatment of rheumatoid arthritis: A clinical study. *Eur J Pharmacol* 2015; 761: 273–278. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.06.014>>.
69. Ronden JN, Groenen-van Dooren MM, Hornstra G et al. Modulation of arterial thrombosis tendency in rats by vitamin K and its side chain. *Atherosclerosis* 1997; 132(1): 61–67.
70. Westenfeld R, Krueger T, Schlieper G et al. Effect of vitamin K2 supplementation on functional vitamin K deficiency in hemodialysis patients: a randomized trial. *Am J Kidney Dis* 2012; 59(2): 186–195. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1053/j.ajkd.2011.10.041>>.