



UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví

Studijní obor: Nutriční specialista

Bc. Veronika Chalánková

Preventivní účinky kyseliny listové ve výživě

Preventive effects of folic acid in nutrition

Diplomová práce

Vedoucí práce: RNDr. Milena Bušová, CSc.

Praha, 2021

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval/a samostatně a že jsem řádně uvedl/a a citoval/a všechny použité prameny a literatury. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím/~~Nesouhlasím~~ s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 30. 11. 2021.

Veronika Chalánková

.....

Podpis

Identifikační záznam

CHALÁNKOVÁ, Veronika. Preventivní účinky kyseliny listové ve výživě [Preventive effects of folic acid in nutrition]. Praha, 2021. s. 76, příl. 1. Diplomová práce (Mgr.). Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Ústav hygieny a epidemiologie. Vedoucí práce RNDr. Milena Bušová. CSc.

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá kyselinou listovou a jejími preventivními účinky pro zdraví člověka. Kyselina listová má v lidském organismu mnoho důležitých funkcí a obzvláště velký význam má v období těhotenství. Je nepostradatelná pro správný vývoj plodu a její dostatečný příjem je prevencí vzniku závažných vrozených vývojových vad, jako jsou defekty neurální trubice, předčasného porodu, potratu a dalších těhotenských patologií. Zvýšenou potřebu tohoto vitamínu není snadné naplnit běžnou stravou. Je tedy doporučeno užívat kyselinu listovou ve formě doplňků stravy (v dávce 400-600 µg/den) v průběhu těhotenství a alespoň měsíc před plánovaným početím. Z těchto důvodů je nezbytné zaměřit se na podporu primární prevence ohledně užívání kyseliny listové, a to nejlépe u všech fertálních žen. Kyselina listová má také zásadní roli v krvetvorbě a hlavním projevem jejího deficitu je megaloblastická anémie. Kyselina listová bývá dále spojována s prevencí kardiovaskulárních a nádorových onemocnění a ovlivnění vývoje kognitivních funkcí.

Praktická část práce byla zaměřena na sledování saturace těhotných žen tímto vitamínem. Práce obsahuje laboratorní analýzu obsahu metabolitu kyseliny listové 5-methyltetrahydrofolátu (5-MTHF) v moči těhotných žen s cílem zjistit jeho obsah a zhodnotit, zda jsou dostatečně saturovány a jak se hodnoty tohoto metabolitu v moči na začátku a ke konci těhotenství liší. Dále je zahrnuto dotazníkové šetření, jehož cílem bylo zjistit, zda jsou těhotné ženy dostatečně informovány o významnosti užívání kyseliny listové, zda tento vitamin užívají a zda upravily své stravovací návyky ve prospěch zvýšeného příjmu tohoto vitamínu. Analýzou byly zjištěny ve všech vzorcích moči měřitelné koncentrace 5-MTHF, což svědčí o saturaci organismu. Průměrná hodnota obsahu 5-MTHF všech vzorků v 1. odběru byla 3,56 µg/g krea, ve 2. odběru 2,75 µg/g krea a ve 3. odběru 3,15 µg/g krea. Dále bylo zjištěno, že u 60 % vzorků došlo ke zvýšení obsahu 5-MTHF ve druhém nebo třetím trimestru oproti prvnímu. U 30 % vzorků došlo naopak ke snížení obsahu 5-MTHF. U 10 % vzorků se naměřené hodnoty všech odběrů lišily jen nevýrazně. Výsledkem dotazníkového šetření bylo důležité zjištění, a to že všechny ženy zařazené do výzkumu o významu kyseliny listové věděly a doplňky stravy s jejím obsahem užívaly a téměř 70 % jich bylo o tomto významu informováno již před navštívením těhotenské poradny. Nicméně ani polovina tázaných žen nenavýšila konzumaci potravin s vyšším obsahem kyseliny listové. Ideálním případem by bylo navýšení příjmu kyseliny listové z běžné stravy v kombinaci s užíváním doplňku stravy.

klíčová slova: kyselina listová, folát, vrozené vývojové vady, prevence, výživa

ABSTRACT

This thesis is focused on folic acid and its preventive effects on human health. Folic acid has many important functions in the human body and is especially important during pregnancy. It is essential for the proper development of the fetus and its adequate intake is the prevention of serious congenital malformations, such as neural tube defects, premature birth, abortion and other pathologies. The increased need for this vitamin is not easy to supplement with a regular diet. It is therefore recommended to take it in the form of food supplements (400-600 µg/day) during pregnancy and at least one month before the planned conception. For these reasons, it is necessary to focus on supporting the primary prevention of folic acid use, preferably in all fertile women. Folic acid also plays a crucial role in hematopoiesis and the main manifestation of its deficiency is megaloblastic anemia. Folic acid is further associated with the prevention of cardiovascular and cancer diseases and influencing the development of cognitive functions.

The practical part of this thesis was focused on monitoring the saturation of pregnant women with this vitamin. The work contains a laboratory analysis of the content of the metabolite folic acid 5-methyltetrahydrofolate (5-MTHF) in the urine of pregnant women in order to determine its content and assess whether they are sufficiently saturated and how the levels of this metabolite in urine at the beginning and end of pregnancy differ. Also included is a questionnaire survey to find out whether pregnant women are well informed about the importance of folic acid use, whether they use the vitamin and whether they have adjusted their eating habits in favor of the vitamin. The analysis showed measurable concentrations of 5-MTHF in all urine samples, indicating saturation of the organism. The average value of 5-MTHF content of all samples in the 1st sample was 3.56 µg/g krea, in the 2nd sample 2.75 µg/g krea and in the 3rd sample 3.15 µg/g krea. Furthermore, 60 % of the samples were found to have an increase in 5-MTHF content in the second or third trimester compared to the first. In contrast, 30 % of the samples had a reduction in 5-MTHF. In 10 % of samples, the measured values of all samples differed only slightly. The questionnaire survey has an important finding, namely that all women included in the research knew about the importance of folic acid and used dietary supplements containing it, and almost 70 % of them were informed about this importance before visiting pregnancy counseling. However, not even half of the women increased their consumption of foods with a higher folic acid content. An ideal case would be to increase the intake of folic acid from a normal diet in combination with the use of a dietary supplement.

keywords: folic acid, folate, congenital malformations, prevention, nutrition

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat své vedoucí práce RNDr. Mileně Bušové, CSc. za její ochotu a odbornou pomoc při tvorbě této práce, za cenné rady, poskytnuté materiály a čas, který mi věnovala. Děkuji také všem ženám, které souhlasily s účastí ve studii a všem svým blízkým za trpělivost a podporu, které mi pomohly tuto práci dokončit.

Obsah

1. Úvod.....	9
TEORETICKÁ ČÁST.....	10
2. Prevence	10
3. Vitamíny obecně.....	11
4. Charakteristika kyseliny listové.....	12
4.1. Historie.....	12
4.2. Chemická struktura a vlastnosti	12
4.3. Funkce a význam kyseliny listové	14
5. Metabolismus kyseliny listové.....	16
5.1. Absorpce a transport	16
5.2. Katabolismus a exkrece.....	17
5.3. Jednouhlíkatý metabolismus	18
5.4. Genetické variace v metabolismu kyseliny listové	18
5.5. Metabolismus homocysteinu.....	19
5.6. Interakce mezi kyselinou listovou a jinými vitaminy skupiny B	20
6. Kyselina listová ve výživě	21
6.1. Doporučené denní dávky kyseliny listové	21
6.1.1. Ekvivalent kyseliny listové.....	21
6.2. Přirozené zdroje kyseliny listové	22
6.2.1. Výskyt kyseliny listové v potravinách rostlinného původu	22
6.2.2. Výskyt kyseliny listové v potravinách živočišného původu	23
6.3. Biologická využitelnost kyseliny listové.....	24
6.4. Stabilita kyseliny listové a změny při zpracování potravin.....	24
6.5. Fortifikace potravin kyselinou listovou.....	25
6.6. Doplnky stravy – suplementace kyseliny listové	26
6.7. Interakce mezi kyselinou listovou a jinými látkami.....	28
6.7.1. Interakce mezi kyselinou listovou a užívanými léky	28
6.7.2. Interakce mezi kyselinou listovou, alkoholem a kouřením cigaret.....	28
7. Preventivní účinky kyseliny listové ve výživě	30
7.1. Význam kyseliny listové ve výživě těhotných.....	30
7.1.1. Prevence vrozených vývojových vad	30
7.1.1.1. Defekty neurální trubice	31
7.1.2. Prevence dalších typů vrozených vad a těhotenských komplikací	33
7.2. Hyperhomocysteinémie.....	34
7.3. Kardiovaskulární onemocnění	35

7.4. Nádorová onemocnění	37
7.5. Vliv kyseliny listové na kognitivní funkce	38
8. Deficit kyseliny listové.....	40
8.1. Příčiny nedostatku.....	40
8.2. Hlavní příznaky.....	41
8.2.1. Megaloblastická anémie	41
8.2.2. Další příznaky.....	42
8.3. Hodnocení nutričního stavu	42
9. Důsledky nadbytku kyseliny listové	43
PRAKTICKÁ ČÁST.....	44
10. Cíl práce	44
11. Metodika práce.....	44
12. Výsledky	50
12.1. Výsledky laboratorní analýzy	50
12.2. Výsledky dotazníkového šetření	52
13. Diskuse	60
14. Závěr	63
Seznam použité literatury.....	64
Seznam zkratk	68
Seznam grafů	69
Seznam tabulek	70
Seznam obrázků	71
Seznam příloh.....	72

1. Úvod

Tématem diplomové práce jsou preventivní účinky kyseliny listové ve výživě člověka. Toto téma jsem si vybrala z důvodu důležitosti tohoto vitamínu pro zdraví člověka, a to zejména ještě před narozením. Kyselina listová neboli folát, či vitamin B9, je ve vodě rozpustný vitamin, patřící do skupiny vitaminů B. Hraje velmi důležitou roli při krvetvorbě, syntéze aminokyselin a nukleových kyselin a společně s vitaminem B12 je nezbytná pro metabolismus rychle se dělících buněk.

Nedostatek kyseliny listové je podstatným problémem v mnoha částech světa, zejména v rozvojových zemích, kde je chudoba a podvýživa. Hlavním příznakem deficitu kyseliny listové je megaloblastická anémie. Zvláště závažné důsledky ovšem nastávají u těhotných žen, kdy nedostatek kyseliny listové může vést k vážným vrozeným vývojovým vadám plodu, především defektům nervové trubice. Deficit je také spojován se zvýšeným rizikem předčasných porodů, potratů a dalších těhotenských komplikací. V období těhotenství bývá příjem kyseliny listové v běžné stravě nedostatečný a je doporučováno užívat tento vitamín formou doplňků stravy. Dále se spekuluje také o pozitivním vlivu kyseliny listové v prevenci kardiovaskulárních a nádorových onemocnění, a také o jejím pozitivním vlivu na vývoj kognitivních funkcí.

Práce je rozdělena na teoretickou a praktickou část. V teoretické části je nejdříve definován význam termínu prevence a obecné informace o vitamínech. Dále je rozebrána charakteristika kyseliny listové z chemického hlediska a jejího funkčního významu pro lidský organismus. Podrobně je popsán metabolismus kyseliny listové a dalších souvisejících látek. V práci jsou uvedeny aktuální denní doporučené dávky tohoto vitamínu pro různé věkové skupiny, obsah kyseliny listové v potravinách, je rozebrána její stabilita a využitelnost. Text rozebírá také problematiku fortifikace potravin a důležitost suplementace tohoto vitamínu. Rozsáhle jsou zde popsány preventivní účinky kyseliny listové, především význam pro správný vývoj plodu v těhotenství. Jsou ovšem probrány i další patologické stavy související s deficitem kyseliny listové, příznaky a důvody vzniku tohoto deficitu, zmíněny jsou taktéž způsoby hodnocení nutričního stavu.

Praktická část obsahuje laboratorní analýzu obsahu metabolitu kyseliny listové 5-methyltetrahydrofolátu (5-MTHF) v moči těhotných žen s cílem zjistit obsah 5-MTHF a zhodnotit, zda jsou dostatečně saturovány a jak se hodnoty tohoto metabolitu v moči na začátku a ke konci těhotenství liší. Dále je zahrnuto dotazníkové šetření, jehož cílem bylo zjistit, zda jsou těhotné ženy dostatečně informovány o významnosti užívání kyseliny listové v období těhotenství, zda tento vitamín užívají a zda upravily své stravovací návyky ve prospěch zvýšeného příjmu tohoto vitamínu.

TEORETICKÁ ČÁST

2. Prevence

Slovo prevence pochází z latinského *praevenire*, což znamená předcházet. Prevence je soubor opatření, která mají bránit výskytu nějakého nežádoucího jevu, snižovat jeho pravděpodobnost, předcházet mu. V případě zdravotnické prevence jde o předcházení vzniku nemoci nebo zpomalení jejího dalšího rozvoje a oddálení jejích projevů a poškozování zdraví. Podle zákona o zdravotních službách č. 372/2011 Sb. se jedná o péči, jejímž účelem je včasné vyhledávání faktorů, které jsou v příčinné souvislosti se vznikem nemoci nebo zhoršení zdravotního stavu, a provádění opatření směřujících k odstraňování nebo minimalizaci vlivu těchto faktorů a předcházení jejich vzniku.

Vzhledem k současnému trendu stárnutí populace, častému nezdravému životnímu stylu a zvyšující se incidenci civilizačních onemocnění, prevence získává stále větší důležitost. Díky preventivním opatřením lze včas odhalit závažná onemocnění, zahájit léčbu a zastavit nebo alespoň zpomalit jejich další rozvoj a následky. Prevence je nejúčinnějším nástrojem pro předcházení předčasné invalidity, ztrátě soběstačnosti, potřebě hospitalizace či předčasným úmrtím.

Prevence je nedílnou součástí všech medicínských oborů. Kromě preventivních prohlídek zahrnuje medicínská prevence také tzv. dispenzarizaci (kontinuální péče o pacienty ohrožené nebo již trpící závažným chronickým onemocněním - např. diabetici), vzdělávání pacientů a očkování. U chronických onemocnění je cílem prevence zpomalení progresu nemoci nebo oddálení jejích klinických projevů. Prevence tedy pokrývá všechna stadia přirozeného vývoje nemoci. Pro odlišení prevence v těchto jednotlivých stádiích se používají termíny primordiální, primární, sekundární a terciární prevence. (Bencko et al., 2002; Tuček et al., 2012)

Účelem primordiální prevence je omezit incidenci onemocnění zabráněním vzniku zvýšených rizik. Může se týkat celé populace nebo jen vybraných skupin. Spočívá ve vytváření optimálních životních podmínek, a to pomocí opatření týkajících se správného stravování, přiměřené tělesné aktivity, odpočinku a psychické pohody, omezení užívání návykových látek. Pro zvýšenou efektivitu by se tato opatření měla uplatňovat již od dětského věku.

Primární prevence má za cíl omezit, nebo alespoň oddálit vznik onemocnění odstraněním již vzniklých rizikových faktorů u osob bez prokazatelného onemocnění. Postupy primární prevence zahrnují intervenci pomocí změny režimu nebo medikace. Primární prevence opět závisí na životním stylu a chování jedince, a proto je důležité informovat jedince o tom, jakým způsobem může rizikové faktory vzniku onemocnění snížit. Patří sem také očkování.

Cílovou skupinou sekundární prevence jsou pacienti ve stadiu nejlehčí klinické manifestace onemocnění. Její podstatou je včasné odhalení onemocnění, které vede k zabránění jeho dalšího rozvoje nebo umožňující jeho vyléčení v časném stádiu (např. zachycení nádoru v bezpříznakovém stadiu). Používanými metodami jsou skriningové programy a preventivní lékařské prohlídky.

Terciální prevence se zabývá již rozvinutými stádii onemocnění. Cílem je omezit zhoršení příznaků nemoci, zabránit opakování jejích projevů a důsledků, vzniku postižení nebo ztráty soběstačnosti, udržet kvalitu života v nemoci. Jedná se o léčbu a rehabilitaci. (Bencko et al., 2002; Tuček, et al., 2012)

3. Vitamíny obecně

Vitamíny jsou organické nízkomolekulární sloučeniny. Jsou syntetizovány především autotrofními organismy. Člověk je získává jako exogenní látky potravou, některé prostřednictvím střevní mikroflóry. Vitamíny nejsou zdrojem energie ani stavebním materiálem, ale jsou součástí katalyzátorů biochemických reakcí a mají i řadu dalších funkcí (kofaktory enzymů, antioxidanty aj.). Dostatečný příjem vitaminů potravou je předpokladem správného fungování uvedených mechanismů a tím udržení dobrého zdravotního stavu. Proto se vitaminům připisuje tak významná role v prevenci vzniku a rozvoje četných onemocnění. (Hlúbik & Opltová, 2004; Velíšek, 2009)

Vitamíny se dělí dle rozpustnosti na:

1. vitamíny rozpustné v tucích – lipofilní (A, D, E, K)
2. vitamíny rozpustné ve vodě – hydrofilní (vitamin C a skupina B-komplexu – B1, B2, B6, B12, kyselina listová, kyselina nikotinová, kyselina pantothenová, biotin)

Pro lidský organismus jsou vitamíny esenciální, tedy nezbytné. Potřeba většiny vitaminů je poměrně nízká. Je ovšem závislá na mnoha faktorech jako je věk, pohlaví, životní styl, zdravotní stav, stravovací zvyklosti apod. a dle nich se liší. Řada zemí má svá doporučení pro denní příjem vitaminů a ty jsou dle vědeckých poznatků průběžně revidovány. Nedostatečný příjem vitaminů v potravě se projeví v organismu různými poruchami. Při deficienci vitaminu, kdy je dodáván organismu v nedostatečném množství se hovoří o hypovitaminóze. Může ale také dojít až k úplnému nedostatku vitaminu, potom se hovoří o avitaminóze. Dlouhodobý nedostatek vitaminů může mít velmi vážné následky. Kromě nedostatku vitaminu v potravě, se na avitaminózách mohou podílet i jiné faktory, jako špatná resorpce vitaminů v trávicím traktu, vliv různých fyziologických změn v organismu, přítomnost avitaminů (látky, které určitým způsobem eliminují biologické účinky vitaminů), nebo také zvýšená potřeba vitaminů při vysoké fyzické nebo i psychické zátěži. V některých případech může dojít naopak k hypervitaminóze, tedy k nadbytku vitaminu, který je způsoben přílišným množstvím vitaminů nahromaděných v organismu. Týká se především vitaminů rozpustných v tucích (A, D, E, K), které jsou ukládány v játrech a tukové tkáni a jejichž dlouhodobá nadměrná koncentrace působí toxicky. Vitamíny rozpustné ve vodě se v těle téměř neukládají a jejich aktuální přebytek se vylučuje ledvinami, proto se u nich hypervitaminóza projevuje jen minimálně. (Hlúbik & Opltová, 2004)

Hlavními zdroji vitaminů jsou základní potraviny, jako maso a masné výrobky, mléko a mléčné výrobky, vejce, cereální výrobky, ovoce a zelenina. Některé vitamíny jsou omezeny jen na určitou skupinu potravin (např. vit. B12 pouze v potravinách živočišného původu) a proto je důležitá pestrá racionální strava. Obsah vitaminů v potravinách je ovlivněn genetickými předpoklady daného organismu a mnoha dalšími faktory, jako je způsob skladování a zpracování potravin, stupeň zralosti, podmínky během růstu atd. Vitamíny jsou velmi labilní složky potravin a jsou citlivé na různé fyzikálně chemické vlivy. U většiny vitaminů dochází při technologickém zpracování a kulinární úpravě potravin ke ztrátám. Vitamíny rozpustné ve vodě se navíc ztrácí výluhem, vitamíny rozpustné v tucích oxidací. Vitamíny jsou indikátorem kvality a šetrnosti v potravinářství. V potravinářském průmyslu se vitamíny používají k obohacování (fortifikaci) potravin, aby se zvýšila koncentrace vitaminu v potravině. Některé vitamíny se používají jako přirozená barviva. V současnosti je na trhu spousta vitaminových doplňků stravy, které výrazně ovlivňují příjem vitaminů. Příjem vitaminů v takové koncentrované formě, může vést až k hypervitaminóze. (Hlúbik & Opltová, 2004; Velíšek, 2009)

4. Charakteristika kyseliny listové

Kyselina listová (jinými názvy kyselina folová, folát, folacin) je ve vodě rozpustný vitamin, patří do skupiny vitaminů B (označována také jako vit. B9). Chemickým názvem se jedná o kyselinu pteroylglutamovou. Biologicky aktivní deriváty této kyseliny, které vykazují stejné vitaminové účinky se nazývají foláty. Kyselina listová funguje metabolicky jako koenzym, který přenáší jednouhlíkové fragmenty z jedné molekuly na druhou v metabolismu aminokyselin a nukleových kyselin. Kyselina listová je nutná pro syntézu DNA a společně s vitaminem B12, se kterým metabolicky kooperuje je nezbytná pro metabolismus rychle se dělících buněk. (Zadák, 2008; Velíšek, 2009)

4.1. Historie

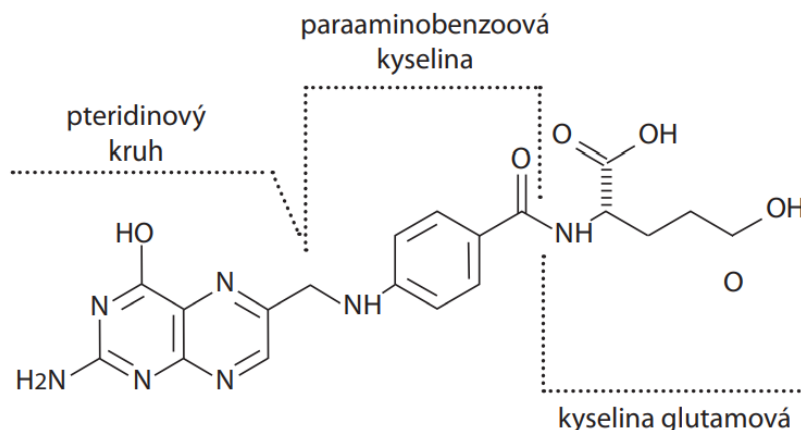
V první polovině 20. století, kdy docházelo k významným pokrokům v oblasti hematologie, začíná historie kyseliny listové. Roku 1931 bylo prokázáno, že autolyzovaný kvasnicový extrakt vyráběný jako vedlejší produkt při vaření piva, je terapeuticky účinný při léčbě megaloblastické anemie u těhotných žen a současně neúčinný proti perniciózní anemii, kterou způsobuje deficit vitamínu B12. Nutriční faktor účinný v léčbě megaloblastické anémie byl zjištěn také v játrech. Roku 1941 byl tento faktor izolován ze špenátových listů, a právě kvůli výskytu v listové zelenině pochází název „kyselina listová“ (z latinského folium, což znamená list). O dva roky později byla kyselina listová syntetizována v čisté krystalické formě, následně byla určena její chemická struktura a dle toho byla látka pojmenována jako pteroylglutamová kyselina. Brzy potom vyšlo najevo, že se foláty vyskytující se v přírodě svou chemickou strukturou liší od pteroylglutamové kyseliny.

Izolace, identifikace struktury a syntéza kyseliny listové vedla k širokému terapeutickému využití tohoto ve vodě rozpustného vitamínu pro léčbu megaloblastické anemie. Během následujících desetiletí byly zkoumány základní aspekty metabolismu a biochemické funkce kyseliny listové a byla stanovena klíčová role folátových koenzymů v jednouhlíkatém metabolismu. Od počátku 90. let 20. století byly pozorovány souvislosti mezi příjmem kyseliny listové a průběhem těhotenství a porodu, a také rizikem vzniku chronických onemocnění. Jedním z nejdůležitějších objevů v oblasti veřejného zdraví v tomto století bylo, že denní suplementace kyseliny listové v prekoncepčním a perikoncepčním období významně snižuje riziko defektů neurální trubice. V důsledku tohoto zjištění se v mnoha zemích začala zavádět fortifikace potravin kyselinou listovou.

Identifikace genetických polymorfismů, které ovlivňují strukturu a funkci folátových enzymů a proteinů a objasnění souvislosti mezi nedostatkem nebo abnormálním metabolismem folátů a patogenezi vrozených vývojových vad, neurologických onemocnění, cévních onemocnění a některých typů rakoviny je předmětem výzkumu ve 21. století. (Hrnčířová, 2017; Rucker et al., 2007; Stránský, 2011; Hoffbrand & Weir, 2001)

4.2. Chemická struktura a vlastnosti

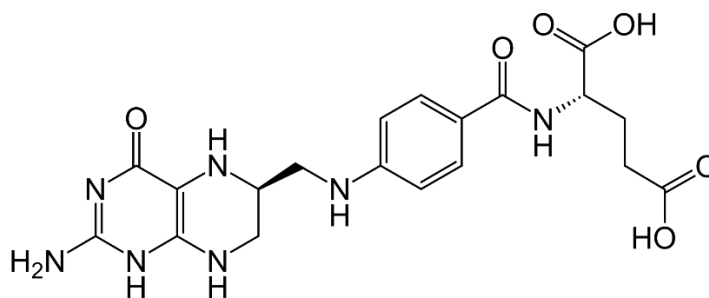
Systematický název kyseliny listové je N-(2-amino-4-hydroxy-6-pteridylmetyl)-p-aminobenzoylglutamová kyselina. Sumární vzorec je $C_{19}H_{19}N_7O_6$ a molekulová hmotnost je 441,4 g/mol. Struktura kyseliny listové je vyobrazena na Obrázku č.1.



Obrázek 1: Strukturní vzorec kyseliny pteroylglutamové (Hrnčířová, 2017)

Kyselina listová ve své chemické struktuře obsahuje pteridinový kruh, navázaný na kyselinu paraaminobenzoovou, na jejíž karboxylovou skupinu se váže prostřednictvím amidové vazby molekula kyseliny glutamové. Podle počtu navázaných zbytků glutamové kyseliny se rozlišuje mezi pteroylmonoglutamátem a pteroylpolyglutamátem. (Rucker et al., 2007; Stránský, 2011)

Pteroylglutamová kyselina je referenční sloučenina pro vitaminovou formu folátu pteroylglutamát. Metabolicky aktivní forma pteroylglutamové kyseliny je redukovaná tetrahydrosloučenina, na kterou je navázan různý počet zbytků glutamové kyseliny (obvykle 3-8 zbytků) a jedná se tedy o polyglutamát. Tato aktivní folátová forma je konkrétně (6S)-5,6,7,8-tetrahydrofolová neboli (6S)-5,6,7,8-tetrahydropteroylglutamová kyselina (tetrahydrofolát, THF) s redukovaným pteridinovým (resp. pyrazinovým) cyklem. Tyto glutamylpeptidy se nazývají jako folylpolyglutamáty nebo jen konjugáty a vykazují nižší biologickou účinnost než kyselina listová. (Zadák, 2008; Velíšek, 2009)



Obrázek 2: Strukturní vzorec kyseliny tetrahydrofolové (volné dílo)

Pod pojmem foláty je zahrnuto více než 100 vitaminových derivátů pteroylglutamové kyseliny. Foláty jsou formou kyseliny listové, ve které se vyskytuje běžně v přírodě, v rostlinných a živočišných tkáních. Mohou je syntetizovat pouze rostliny a některé bakterie. Foláty existují v mnoha chemických formách jak v potravinách, tak v lidském organismu. V potravinách se nejčastěji vyskytují dihydrofoláty nebo tetrahydrofoláty. Tyto redukované formy mohou být substituované jednouhlíkatými sloučeninami. Přírodní foláty se od syntetické kyseliny listové tedy liší obsahem glutamátových zbytků (polyglutamáty), redukcí na di- nebo tetrahydroformy (např. tetrahydrofolát), přítomností jednouhlíkatých zbytků (např. metyl -CH₃, metylen -CH₂, formyl -CHO) a svou chemickou nestabilitou. Synteticky se vyrábí kyselina listová v plně oxidované formě monoglutamátu (pteroylmonoglutamová kyselina, PGA), která je stabilní a nejlépe (téměř 100 %) využitelná (při užití nalačno). Tato forma se využívá v komerčně dostupných doplňcích stravy,

lécích a obohacených potravinách. Fortifikace potravin a doplňky stravy jsou dále rozebrány v kapitolách 6.5. a 6.6. (Hrnčířová, 2017; Stránský, 2011)

Kyselina listová je žluto-oranžový krystalický prášek, bez chuti a zápachu. Je nerozpustná v alkoholu a jiných organických rozpouštědlech. Co se týče rozpustnosti ve vodě, tak v kyselé formě se ve vodě rozpouští pouze omezeně, ale ve formě solí je rozpustnost poměrně dobrá. Molekula tetrahydrofolátu je termolabilní, citlivá na světlo a náchylná k působení kyslíku a extrémních hodnot pH. Stabilita kyseliny listové a folátů je rozebrána v kapitole 6.4. (Stránský, 2017; Rucker et al., 2007)

4.3. Funkce a význam kyseliny listové

Kyselina listová samotná nemá vlastní biologické účinky. Biologicky aktivní jsou až její metabolity, které vznikají enzymatickou přeměnou v játrech a účastní se přenosu jednouhlíkatých sloučenin v intermediárním metabolismu. Označení „foláty“ se používá souhrnně pro kyselinu listovou a její metabolity. Foláty jsou součástí enzymů, které se podílejí na syntéze purinových bází (adenin, guanin) a pyrimidinového nukleotidu (deoxythimidin monofosfát), které jsou nezbytné pro syntézu nukleových kyselin, a tedy pro syntézu DNA v buněčném jádře. Foláty se také podílí na syntéze mnoha aminokyselin (např. tryptofan, glycin, methionin), jsou součástí enzymů regulujících buněčné dělení a v organismu jsou důležité v buněčných systémech s velmi rychlým dělením, jako např. krvetvorba v kostní dřeni, epitelální buňky trávicího, dýchacího a urogenitálního traktu. Vzhledem ke své úloze v metabolismu proteinů se účastní všech vývojových a růstových mechanismů a jsou podstatné pro normální vývoj plodu. (Hrnčířová, 2017; Stránský, 2011; Koucký, 2011)

V případě nedostatku kyseliny listové v organismu, dochází ke snížení její koncentrace v plazmě a erytrocytech a k narušení výše zmíněných systémů, které jsou na jejich funkcích závislé a z toho potom plynou projevy a symptomy deficitu (viz. kapitola 8). Hlavním důsledkem deficitu je megaloblastická anémie. Dalším projevem bývají změny epitelu sliznic, které mohou vést k zánětům (např. glossitida) a také k zažívacím potížím a malabsorpci. Tyto patologie pak ještě více nepříznivě ovlivňují nutriční stav nemocného. Výrazný nedostatek tohoto vitamínu může narušit spermatogenezi a ovlivnit plodnost. U starších osob se může nedostatek projevit neuropsychickými poruchami, a zvláště závažné důsledky nastávají u těhotných žen, kdy nedostatek kyseliny listové může vést k vrozeným vývojovým vadám plodu a různým těhotenským komplikacím. Spekuluje se také o pozitivním vlivu kyseliny listové v prevenci kardiovaskulárních a nádorových onemocnění, a ovlivnění kognitivních funkcí, ovšem výsledky studií jsou nejednotné (viz. kapitola 7). (Hrnčířová, 2017; Stránský, 2011; Kasper, 2015)

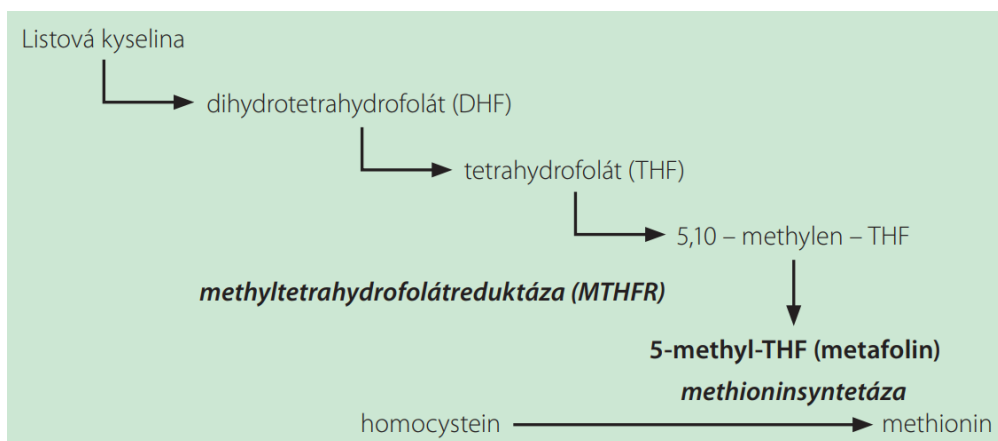
Důležitým faktem je skutečnost, že funkce kyseliny listové v organismu je úzce spojena s vitamínem B12 a B6 (pyridoxinem). Součinnost těchto tří vitamínů je významná v metabolismu aminokyseliny homocysteinu. Homocystein je intermediárním produktem metabolismu jedné z esenciálních aminokyselin, methioninu. Homocystein se ve zdravém normálně fungujícím metabolismu člověka přeměňuje zpátky na methionin za účasti metabolitu kyseliny listové společně s vitamíny B12 a B6, které působí jako kofaktory enzymatické reakce. Proto je koncentrace homocysteinu v tkáních a plazmě velmi nízká. Metabolismus homocysteinu je popsán v kapitole 5.5. V případě, že je těchto vitamínů nedostatek, tak homocystein zůstává v krvi, zvyšuje se jeho plazmatická koncentrace a stává se rizikovým faktorem pro vývoj aterosklerotických cévních onemocnění a defektů nervové trubice (viz. kapitola 7.2.). (Kasper, 2015; Combs, 2012)

Nedostatek kyseliny listové je důležitým problémem v mnoha částech světa, zejména v rozvojových zemích, kde je chudoba a podvýživa. Je to druhá nejčastější příčina anémie, hned za anémií způsobenou nedostatkem železa. (Combs, 2012)

5. Metabolismus kyseliny listové

5.1. Absorpce a transport

Kyselina listová se v potravě vyskytuje převážně v polyglutamátové formě. Aby mohly být polyglutamáty ve střevě vstřebány epitelovými buňkami, musí být nejprve hydrolyticky rozštěpeny enzymem na monoglutamáty, které jsou téměř kompletně vstřebatelné (kdežto forma polyglutamátu cca jen z 50 %). Tímto enzymem je střevní konjugáza (folylpoly- γ -glutamát karboxypeptidáza nebo jen folátová konjugáza), která z polyglutamátů odštěpuje glutamátové zbytky. Folátová konjugáza je rozšířena ve sliznici proximální části jejunu, primárně v membráně kartáčového lemu enterocytů a je aktivní v závislosti na pH. Optimální aktivita enzymu je při pH 6,5-7,04. Vlivem některých faktorů, může dojít ke snížení aktivity konjugázy, což bude mít za následek sníženou absorpci folátů. Jedním z faktorů může být nedostatek zinku ve stravě, přítomnost přirozeně se vyskytujících inhibitorů v přijímaných potravinách, konzumace alkoholu a užívání řady léků (viz. kapitola 6.7). Přírodní inhibitory konjugázy jsou obsaženy v některých potravinách jako např. zelí, pomeranče, droždí, fazole, sója, čočka. Ve druhé fázi absorpce probíhá transport monoglutamátu přes střevní mukózu, který je nejvíce aktivní při pH 5-6. Vstup folátů do epitelálních buněk tenkého střeva je zajištěn pomocí membránových transportních systémů – folátových transportérů a folátových receptorů. Tyto mechanismy probíhají nejen ve střevě, ale také při reabsorpci v proximálních tubulech a při přesunu plazmou. Při vysokém příjmu dochází vedle aktivního transportu také ke vstřebávání folátů pasivní difuzí, a to z 20-30 %. V epitelových buňkách jsou monoglutamáty pomocí enzymu methyltetrahydrofolátreduktázy (MTHFR) metabolizovány na 5-methyl-tetrahydrofolát (5-MTHF), což je hlavní plazmatická forma vitamínu a jeden z nejdůležitějších účinných metabolitů kyseliny listové (viz. schéma na obrázku 3). Ve formě 5-MTHF jsou z cirkulace transportovány do různých tkání, kde jsou konvertovány na tetrahydrofolát a ten je následně přeměněn na polyglutamát. Stupeň metabolizace ovšem závisí na dávkách kyseliny listové. V případě vysokého příjmu syntetické kyseliny listové (od 260 μ g jednorázové dávky), se dostává krevním oběhem do jater také ve své nezmetabolizované formě. Nezmetabolizovaná forma kyseliny listové je v těle přeměněna na dihydrofolát. (Hlúbik & Opltová, 2004; Hrnčířová, 2017; Combs, 2012; Rucker et al., 2007; Stránský, 2011; Společnost pro výživu, 2019)



Obrázek 3: Schéma vzniku aktivního metabolitu kyseliny listové 5-methyltetrahydrofolátu (Koucký, 2011)

Přibližně 10–20 % monoglutamátů je z portální krve vychytáváno játry a zbytek je využit ostatními tkáněmi (např. zrajícími enterocyty v kostní dřeni). V portální krvi převládá redukovaná forma tetrahydrofolové kyseliny. V játrech dochází k její metabolizaci převážně na 5-MTHF a v této podobě pak přechází do periferní krve. Podávání velkých perorálních dávek kyseliny listové ovšem

vede k výrazně zvýšenému vylučování nemetabolizované kyseliny listové močí. Část folátů cirkuluje v plazmě volně a část je vázána na bílkoviny. Převážně se jedná o bílkoviny s nízkou afinitou, jako je albumin (cca 50 %). V menší míře se vážou také na bílkoviny s vysokou afinitou (tzv. folate-binding proteins), což je rozpustná forma folátového transportéru spojeného s membránou (cca 5 %). Koncentrace folátů v plazmě se obvykle pohybuje mezi 10–30 nmol. Ve vyšší koncentraci se foláty nacházejí v erythrocytech, a to v rozmezí 50–100 nmol. Zásoby se v nich hromadí během erythropoézy, zralý erythrocyt už další foláty nepřijímá. Ke snížení plazmatické hladiny folátů i jejich koncentrace v erythrocytech přispívá kouření cigaret a také chronický alkoholismus, což je dále rozebráno v kapitole 6.7.2. (Combs, 2012; Rucker et al., 2007)

Do buněk foláty vstupují pouze ve formě derivátů monoglutamátu vyskytujících se v plazmě, jelikož polyglutamáty neprostoupí buněčnou membránou. Mechanismy vstupu jsou obdobné jako u absorpce ve střevě. Uvnitř buňky dochází k metylaci tetrahydrofolátu na 5-MTHF, který je vázán na intracelulární makromolekuly. Aby se foláty v buňce udržely, musí být přeměny na folypolyglutamáty a takto se drží v buňkách ve vyšších koncentracích než extracelulárně. Aby se polyglutamátová forma folátu uvolnila zpět do oběhu, musí být znovu převedena na monoglutamát. (Combs, 2012; Rucker et al., 2007)

V lidském organismu jsou játra hlavním orgánem pro metabolizaci a ukládání folátů. Játra regulují zásobení ostatních orgánů. Foláty se v organismu nachází v celkovém množství kolem 10-100 mg, z toho asi 3-16 mg je uloženo v játrech. Tato rezerva je schopna i bez příjmu kyseliny listové zajistit během 3-4 týdnů požadovanou sérovou koncentraci. (Společnost pro výživu, 2019)

V játrech jsou foláty skladovány ve formě tetra-, penta-, hexa-, a heptaglutamátů 5-MTHF a 10-formyl-THF. Relativní množství těchto jednonukleotidových derivátů se v ostatních tkáních liší podle rychlosti dělení buněk. Ve tkáních s rychlým buněčným dělením (např. střevní sliznice, regenerující se játra, karcinom) jsou koncentrace 5-MTHF relativně nízké, obvykle se současně zvýšenou koncentrací 10-formyl-THF. Ve tkáních s pomalým buněčným dělením (např. zdravá játra) naopak převládá 5-MTHF. (Combs, 2012)

5.2. Katabolismus a exkrece

Kyselina listová se vylučuje močí primárně rozložená a je tedy před vyloučením katabolizována. Pouze velmi malé procento přijaté kyseliny listové se vylučuje v nemetabolizované podobě, odhadem asi 1–2 %. Při katabolismu folátů dochází ke štěpení polyglutamátů mezi vabami C-9 a N-10, při kterém se uvolňují pteridinové a p-aminobenzoylpolyglutamátové skupiny. Toto štěpení pravděpodobně vyplývá z chemické oxidace kofaktoru jak v lumen střeva, tak ve tkáních. Jakmile se p-aminobenzoylpolyglutamát vytvoří, je nejspíše působením folyl konjugázy degradován a acetylován za vzniku p-acetaminobenzoylglutamátu a p-acetoaminobenzoátu. Míra katabolismu souvisí s mírou utilizace uvnitř buněk. Hladiny p-acetoaminobenzoátu v moči tedy korelují s celkovým množstvím folátů v těle. Rozklad kyseliny listové je největší za hyperplastických podmínek (např. těhotenství). V organismu se kyselina listová uchovává 2–4 měsíce. Metabolický pool vitamínu může být jednak větší s pomalejším obratem, a menší s rychlejším obratem. U lidí s pomalým obratem je míra obratu celkového množství folátů v těle velmi pomalá, a to i více jak 100 dní. Při nízkém až středním příjmu bývá denně katabolizováno a následně vyloučeno asi 0,5 -1 % z celkových zásob kyseliny listové. (Hrnčířová, 2017; Combs, 2012; Společnost pro výživu; 2015)

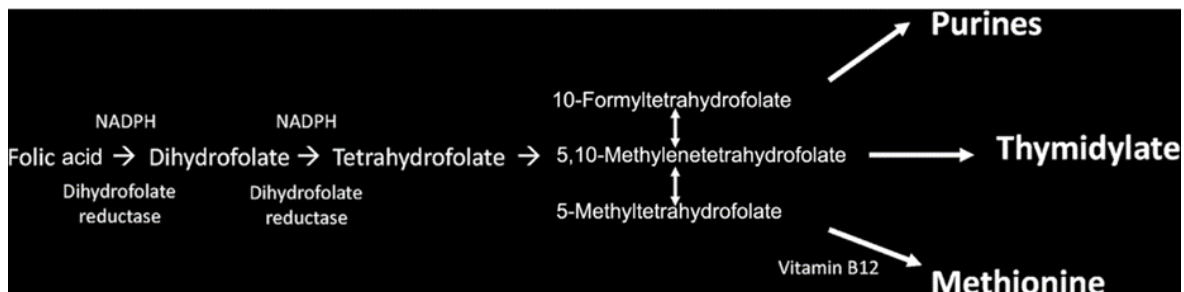
Ve vodě rozpustné řetězce metabolitů p-acetaminobenzoylglutamátu a p-acetaminobenzoátu jsou vylučovány močí a žlučí. Celková exkrece do moči je malá, obvykle do 1 % z celkových zásob

organismu za den. V ledvinách v proximálních tubulech se část folátů reabsorbuje aktivní endocytózou ve formě 5-MTHF. Větší množství folátů je vylučováno do žluči, z toho je ale většina zase zpětně vstřebána prostřednictvím enterohepatálního oběhu. Foláty jsou vylučovány také stolicí, ale většina z nich představuje produkty střevní mikroflóry. Mohou takto být vyloučeny i nevstřebané foláty z potravy. Odhaduje se, že množství vylučovaných folátů stolicí je srovnatelné s množstvím vylučovaném močí, nebo o něco větší (Hrnčířová, 2017; Combs, 2012)

5.3. Jednouhlíkatý metabolismus

Folát hraje zásadní roli v jednouhlíkatém metabolismu. Usnadňuje přenos jednouhlíkových zbytků jako methyl (-CH₃), methylen (-CH₂-), methenyl (=CH-), formyl (-CHO, aldehydová skupina) a formimin (-CH=NH), v reakcích potřebných pro syntézu purinových a pyrimidinových prekurzorů nukleových kyselin, pro metabolismus aminokyselin methioninu, serinu, glycinu a histidinu a pro tvorbu methylačních činidel potřebných pro normální fungování metabolismu a genovou regulaci.

Kyselina listová sama o sobě nemá žádnou koenzymovou aktivitu, dokud není metabolizována na tetrahydrofolát, který je poté aktivován jednouhlíkovou jednotkou za vzniku 10-formyltetrahydrofolátu, 5,10 methylenetetrahydrofolátu a 5-MTHF. Každý z těchto folátových kofaktorů podporuje biosyntetickou cestu pro syntézu purinů a thymidylátu a remethylaci homocysteinu na methionin (viz. schéma na obrázku 4). Cyklus methioninu vyžaduje 5-MTHF a vitamín B12 a je vysoce citlivý na snížený stav kyseliny listové, kdy je schopnost buňky remethylovat buněčný homocystein narušena, což vede ke zvýšeným hladinám homocysteinu v plazmě. Hladiny homocysteinu v plazmě jsou proto nepřímým indikátorem hladiny folátu. (Scaglione & Panzavolta, 2014)



Obrázek 4: Schéma jednouhlíkatého metabolismu kyseliny listové (Scaglione & Panzavolta, 2014)

5.4. Genetické variace v metabolismu kyseliny listové

V metabolismu kyseliny listové existují různé genetické polymorfismy, které mohou ovlivňovat potřebu folátu a zdravotní stav jedince. Patří sem polymorfismy methyltetrahydrofolátreduktázy (MTHFR) – jednoho z nejdůležitějších enzymů ve folátovém metabolismu, který vytváří hlavní biologicky účinný folát 5-methyl-THF. Tento enzym je u lidí kódován MTHFR genem, který je umístěn na chromozomu 1 a dosud bylo zjištěno více jak 25 polymorfismů tohoto genu. Nejvýznamnější je mutace MTHFR C677T. Za normální situace je na této pozici chromozomu přítomna báze cytosin (C), ale v rámci mutace je přítomen thymin (T). Normální je tedy homozygotní konstituce 677 CC. Mutace genu, ať už v hetero nebo homozygotní konstituci (677 CT nebo 677 TT), vede k narušení termostability enzymu MTHFR, což vede ke snížení jeho aktivity. Jedinci heterozygoti (677 CT) mají jen lehce sníženou aktivitu enzymu MTHFR, což při normálním příjmu

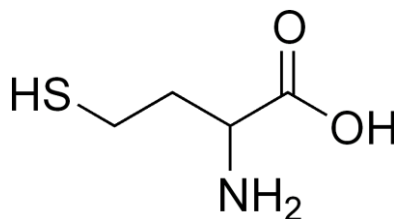
kyseliny listové nemusí mít žádné klinické důsledky. U jedinců s kompletní homozygotní formou mutace (677 TT) již dochází k závažnější poruše enzymu, v jejímž důsledku může docházet ke zvyšování hladiny homocysteinu. Dosavadní výzkum však ukázal, že toto platí jen při nízkém příjmu kyseliny listové a její nízké plazmatické hladině. Nicméně nejsou k dispozici přesné údaje o tom, jaká hladina 5-methyl-THF je dostatečná ke katalyzování methioninsyntetázy a tedy i o tom, při jakém snížení hladin 5-methyl-THF může dojít k hromadění toxického homocysteinu. Ukazuje se, že 5-methyl-THF přímo ovlivňuje NO-syntázu a jeho nedostatek, bez ohledu na hladiny homocysteinu, může vést ke snížení produkce oxidu dusnatého (NO) endotelovými buňkami, s možnými důsledky na mikrocirkulaci. Farmakokinetické studie ukazují, že podávání aktivního metabolitu listové kyseliny má ve srovnání s listovou kyselinou minimálně stejnou, ne-li vyšší biologickou dostupnost. Přestože informací na toto téma zatím není mnoho, dosavadní práce ukazují, že u lidí s prokázanou poruchou zpracování folátů – MTHFR mutacemi – jsou pak v plazmě prokazovány vyšší hladiny 5-methyl-THF při podávání této látky ve srovnání s podáváním prosté listové kyseliny. (Koucký, 2011)

Jedinci s výše zmíněnými genotypy mohou mít tedy sníženou enzymatickou aktivitu MTHFR, v důsledku toho snížené množství aktivního metabolitu kyseliny listové a tím pádem zvýšenou potřebu příjmu kyseliny listové. V těhotenství je potřeba folátů zvýšena a není-li příjem stravou dostatečný, může být jejich relativní nedostatek umocněn právě při MTHFR mutacích. Ženy s tímto polymorfismem mají vyšší riziko vzniku rozštěpových vad neurální trubice plodu a pravděpodobně i k některým dalším patologickým stavům v těhotenství. Přesná prevalence jednotlivých klinicky významných variant MTHFR v populaci není známa, ale dle dostupných údajů dosahuje v různých kombinacích až 40 %. Genotyp 677 TT se často vyskytuje u 15-35 % mexického a latinskoamerického obyvatelstva. V severní Evropě je výskyt okolo 6-14 %, v jižní Evropě 15-24 %. (Koucký, 2011; Společnost pro výživu, 2019)

Polymorfismy byly identifikovány i u dalších, stejně důležitých enzymů folátového metabolismu, a to u metioninsyntázy a metioninsyntázreduktázy. Tyto polymorfismy vedou k poruchám metabolismu a zvýšené koncentraci homocysteinu. (Společnost pro výživu, 2019)

5.5. Metabolismus homocysteinu

Homocystein (2-amino-4-sulfanylbutanová kyselina) je neesenciální sírná aminokyselina, která vzniká jako meziprodukt při metabolické přeměně aminokyseliny methioninu na aminokyselinu cystein. Tento děj probíhá za pomoci vitamínů B, zvláště vitamínů B6, B12 a kyseliny listové. Nedostatek těchto vitamínů, anebo vzácné dědičné onemocnění (homozygotní homocystinurie) mohou vést ke zvýšené hladině homocysteinu v krvi. (Vlachová, 2004)



Obrázek 5: Chemická struktura homocysteinu (volné dílo)

Metabolismus homocysteinu probíhá dvěma metabolickými drahami: remetylační a transsulfurační. V remetylační dráze je homocystein přeměněn na metionin, a to dvěma poměrně složitými enzymovými systémy.

- a) Methionin syntáza přeneše za účasti vitamínu B12 metylovou skupinu z 5-MTHF na homocystein (vyžaduje kofaktor vit. B12 a dostatek substrátu 5-MTHF). K této reakci dochází v játrech, ledvinách a mozku.
- b) V alternativní reakci remetylační dráhy jaterní betain-homocystein metyltransferáza (BHMT) přeneše z betainu (oxidační produkt cholinu) metylovou skupinu na homocystein. Tato reakce probíhá pouze v játrech, zejména při hladovění.

Zbytek homocysteinu, který není remetylován se transsulfuruje pomocí cystathionin-beta-syntázy, která vyžaduje jako kofaktor aktivní formu vitamínu B6, na cystationin a ten je dále metabolizován na cystein, glutathion a sulfáty. Transsulfurační dráha je ireverzibilní. Regulační vliv na intenzitu obou metabolických cest má především intracelulární koncentrace S-adenosylmetioninu (SAM), která při zvýšeném přívodu methioninu stimuluje dráhu transulfurační. U zdravých jedinců s optimálně fungujícím metabolismem se tedy homocystein přeměňuje na methionin a jeho koncentrace v tkáních a plazmě je proto velmi nízká. V případě, že se homocystein dostatečně nemetabolizuje, dochází ke zvyšování jeho plazmatické koncentrace. Zvýšená hladina homocysteinu v krvi se nazývá jako hyperhomocysteinémie. Homocystein nepříznivě ovlivňuje cévní endotel a koagulační faktory a jeho zvýšená koncentrace je tak významným rizikovým faktorem kardiovaskulárních onemocnění (např. ateroskleróza, ischemická choroba srdeční, arytmie, hluboká žilní trombóza, plicní embolie), cévních mozkových příhod (mozková mrtvice), vrozených vývojových vad plodu (zejména nervové soustavy) a potratů. Téma hyperhomocysteinémie je dále rozvedeno v kapitole 7.2. (Vlachová, 2004; Hyánek, 2002)

5.6. Interakce mezi kyselinou listovou a jinými vitaminy skupiny B

Kyselina listová je v látkové přeměně ve spojení s vitaminy B12, B6 a B2. Vitamin B12 se jako koenzym účastní reakce homocysteinmethyltransferáz při regeneraci homocysteinu na methionin, kde je metylová skupina v 5-MTHF postupně přenášena na homocystein pomocí metionin syntetázy a kofaktoru vitamínu B12. Při nedostatku folátu nebo vitamínu B12 je tato reakce blokována, a to vede ke zvyšování hladiny homocysteinu v plazmě. Při nedostatku vitamínu B12 stoupá koncentrace methyl-THF v buňkách, což vede k funkčnímu nedostatku intracelulárního THF a tím k nedostatku 5,10-methylen-THF a tedy ke snížené syntéze DNA. Z tohoto důvodu dochází při nedostatku vitamínu B12 k podobným hematologickým příznakům při nedostatku kyseliny listové. Vitamin B2 se jako součást enzymů flavoproteinu podílí např. na přeměně 5,10-methylen-THF přes MTHFR na 5-MTHF. Vitamin B6 je nezbytný pro přeměnu homocysteinu přes cystationin na cystein. Tyto reakce jsou katalyzovány cystationin- β -syntázou a cystationázou. (Společnost pro výživu, 2019)

6. Kyselina listová ve výživě

Organismus člověka není schopný kyselinu listovou syntetizovat, a proto ji musí získávat z vnějších zdrojů – z potravy, případně pomocí potravinových doplňků. V potravě se kyselina listová přirozeně vyskytuje jednak volná (jako pteroylmonoglutamát), jednak ve vázané formě (pteroylpolyglutamát). Převážně je ale obsažena ve formě folyl polyglutamátů, které bývají vázané hlavně na bílkoviny, případně na zásobní polysacharidy jako škrob a glykogen. Jedná se především o formu redukováných tetrahydrofolátů s různým počtem zbytků glutamové kyseliny. Jen velmi malé množství je ve formě monoglutamátu. V čerstvých potravinách se nejčastěji nachází 5-methyl-THF a formyl-THF. Hydrolýzu polyglutamátů usnadňuje přítomnost folátové konjugázy (která se nachází primárně v tenkém střevě) v mnohých syrových potravinách. (Hrnčířová, 2017; Velíšek, 2009; Kasper, 2015)

6.1. Doporučené denní dávky kyseliny listové

6.1.1. Ekvivalent kyseliny listové

Pojem ekvivalent kyseliny listové (v angličtině zkratka DFE = dietary folate equivalent) zohledňuje různou vstřebatelnost u různých forem kyseliny listové. Čistá kyselina listová má vstřebatelnost vyšší než mono a polyglutamáty a vstřebatelnost se také zvyšuje při konzumaci kyseliny listové nalačno. DFE přepočítává všechny dietární formy kyseliny listové na množství, které je ekvivalentní kyselině listové z přirozených potravinových zdrojů.

Definice:

- 1 µg DFE = 1 µg folátu v potravě
- 1 µg DFE = 0,6 µg kyseliny listové z obohacených potravin nebo doplňků stravy konzumovaných s potravou
- 1 µg DFE = 0,5 µg kyseliny listové z doplňků stravy konzumovaných nalačno

Při konzumaci smíšené stravy, tedy přirozeného folátu a čisté kyseliny listové dohromady, se může použít následující vzorec: $\mu\text{g celkového příjmu DFE} = \mu\text{g folátu z potravy} + (1,7 \times \mu\text{g syntetické kyseliny listové})$ (FAO/WHO, 2004) (Hrnčířová, 2017)

Referenční hodnoty pro příjem živin, včetně kyseliny listové, byly u nás převzaty z doporučení Společností pro výživu v Německu, Rakousku a Švýcarsku (DACH). Doporučení DACH jsou výsledkem řady odborných vědeckých studií a můžeme je tak považovat za průkazné. Dle těchto doporučení je denní dávka ekvivalentu kyseliny listové pro dospělé populaci 300 µg. Toto množství je reálně získat z běžné stravy. Zvýšená potřeba kyseliny listové nastává v období těhotenství, a to dvakrát až třikrát. DACH stanovují doporučený denní příjem kyseliny listové pro těhotné ženy na 550 µg DFE. Tuto zvýšenou potřebu je ale již obtížné pokrýt běžnou stravou. DACH doporučují ženám, které by mohly otěhotnět, nebo těhotenství plánují, přidat k běžné stravě 400 µg syntetické kyseliny listové denně, a to minimálně 4 týdny před početím a pokračovat až do konce 3. měsíce těhotenství. Takového příjmu kyseliny listové lze dosáhnout suplementací doplňků stravy nebo léčiva. Všechny doporučené hodnoty rozdělené podle věkových skupin jsou uvedeny v tabulce 1. (Společnost pro výživu, 2019)

Pro srovnání, doporučený denní příjem podle FAO/WHO (2004) i NIH National Institute of Health (2021), kteří se drží doporučení IOM (Institute of Medicine, 1998) je 400 µg DFE pro dospělé a 600 µg pro těhotné. Nižší dávky doporučuje např. Velká Británie (2019), a to 200 µg DFE pro dospělé a 300 µg DFE v těhotenství s přidáním suplementace 400 µg kyseliny listové denně. (NIH, 2021; WHO, 2004; BDA, 2019)

Tolerovatelný celkový příjem (Tolerable Upper Intake level, UL) kyseliny listové byl stanoven Vědeckou komisí pro potraviny EU a IOM na 1000 µg/den pro dospělé. Pro děti a mladistvé (1-17 let) je tolerovatelný celkový příjem vzhledem k nižší tělesné hmotnosti vypočítán na 200-800 µg/den. Tyto hodnoty byly schváleny také Evropskou komisí pro bezpečnost potravin (EFSA). Příjem folátů není omezen. (Společnost pro výživu, 2019)

Tabulka 1: Doporučený denní příjem ekvivalentu kyseliny listové na den pro různé věkové kategorie podle DACH a FAO/WHO

Věk	DGE (D-A-CH) µg ekvivalentu/den	FAO/WHO µg ekvivalentu/den
Kojenci		
0 – 3 měsíce	60	80
4 – 11 měsíců	80	80
Děti a dospívající		
1 – 3 roky	120	150
4 – 6 let	140	200
7 – 9 let	180	300
10 – 12 let	240	400
13 – 14 let	300	400
15 – 18 let	300	400
Dospělí		
> 19 let	300	400
Těhotné	550	600
Kojící	450	500

6.2. Přírodní zdroje kyseliny listové

Foláty jsou obsaženy v mnoha potravinách rostlinného i živočišného původu, ve většině však pouze v nízkých koncentracích. Vysoké koncentrace folátů se nachází v čerstvé listové zelenině (zejména špenát a kapusta), luštěninách, droždí, játrech. Mezi další zdroje patří celozrnné obiloviny (hlavně klíčky), pomeranče, různé druhy zeleniny (červená řepa, rajčata), vaječný žloutek. Některé potraviny, jako např. brambory a mléčné výrobky, mají výrazně nižší obsah folátů, ale jelikož bývají konzumovány často a ve větším množství, tak přispívají k jejich celkovému příjmu. (Hrnčířová, 2017)

V živočišných a rostlinných organismech je přítomno velké množství derivátů pteridinu (v živočišných asi 100 různých forem folacinu), které zastávají funkce stimulatorů klíčení (např. u brambor, sóji) nebo barevných pigmentů (v křídlech motýlů). (Velíšek, 2009)

6.2.1. Výskyt kyseliny listové v potravinách rostlinného původu

Potraviny rostlinného původu jsou dobrým zdrojem kyseliny listové. Jejím nejvýznamnějším zdrojem je tmavá listová zelenina, od které také pochází původ názvu vitamínu. V zelenině a ovoci se vyskytují hlavně polyglutamylpeptidy odvozené od 5-methyltetrahydrofolové kyseliny a 10-formyltetrahydrofolové kyseliny. V zelenině se kyselina listová nachází převážně ve formě heptaglutamylkonjugátu. V pomerančích je hlavní formou pentaglutamát (cca 40 % celkového množství vitamínu) a tetraglutamát (cca 10 %), v hlávkovém salátu pentaglutamát a monoglutamát (obě formy tvoří cca 30 % vitamínu). Kyselina listová je obsažena také v obilovinách a luštěninách. V pšenici a žitu (také v chlebu a dalších cereálních výrobcích nebo luštěninách) je například 38-55

% vitamínu ve formě 10-formyltetrahydrofolové kyseliny, 5-20 % jako 5-methyltetrahydrofolové, 3-8 % ve formě tetrahydrofolové, 12-21 % vitamínu jako 10-formylhydrofolové a 12-23 % jako folové kyseliny. Sójové boby obsahují 5- a 10-formyl deriváty, okolo 15 % 5-methyl-THF a více než polovinu tvoří monoglutamáty. (Velíšek, 2009, Combs, 2012)

Další potravinou s bohatým obsahem folátů je droždí, což jsou jednobuněčné mikroorganismy řadící se mezi nižší houby, konkrétně kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*. V lidské výživě se používají buď jako pekařské kvasnice, sušené droždí, ale také jako pivovarské kvasnice. Kyselinu listovou obsahují také vyšší houby (*Basidiomycetes*). (Velíšek, 2009; Dostálová, 2012) Orientační obsah folátů ve vybraných potravinách rostlinného původu uvádí tabulka 2.

Tabulka 2: Obsah folátů v potravinách rostlinného původu ($\mu\text{g}/100\text{ g}$) dle USDA, 2021

Potravina	Obsah folátů $\mu\text{g}/100\text{ g}$	Potravina	Obsah folátů $\mu\text{g}/100\text{ g}$
Droždí	3790 (1 lžička 6 g = 227)	Brokolice	42-88
Pivovarské kvasnice	2340	Lněná semínka	87
Čočka	479 (1 lžíce 12 g = 57)	Hrášek	65
Fazole červené (syrové)	394 (konzervované 36)	Kapusta	62
Sójové boby	375	Květák	57
Pšeničné klíčky	352	Mandle	44
Mungo fazole	216	Zelí	43
Červená čočka	204	Celozrnný chléb	42
Špenát	113-194	Listový salát	34
Chřest	136-171	Mouka žitná	34
Žitný chléb	110	Pomeranč	30
Červená řepa	109	Mouka pšeničná celozrnná jemně mletá	28
Vlašské ořechy	98	Banán	20
Rukola	97	Brambory	17
Avokádo	89	Rajčata	15

6.2.2. Výskyt kyseliny listové v potravinách živočišného původu

Většina živočišných potravin neobsahuje příliš velké množství listové kyseliny. Výjimkou jsou vnitřnosti jako játra, které jsou významným zdrojem folátů, dále také vaječný žloutek. Maso a mléko obsahují nízké koncentrace folátů. V sýrech je jejich obsah o něco vyšší.

Hlavními přirozenými formami folátu v živočišných materiálech jsou polyglutamylpeptidy odvozené od 5-methyltetrahydrofolové kyseliny (asi 50 %), 10-formyltetrahydrofolové kyseliny (asi 10 %), a tetrahydrofolové kyseliny (asi 40 %). V mléce a mléčných výrobcích je z celkového množství vitamínu průměrně 25 % 5-methyltetrahydrofolové, asi 60 % 10-formyltetrahydrofolové a 15 %

tetrahydrofolové kyseliny. Čerstvé maso obsahuje hlavně penta- až heptaglutamát, ve skladovaném masu je hlavní formou triglutamát. Orientační obsah folátů ve vybraných potravinách živočišného původu uvádí tabulka 3. (Hrnčířová, 2017; Velíšek, 2009)

Tabulka 3: Obsah folátů v potravinách živočišného původu ($\mu\text{g}/100\text{g}$) dle USDA, 2021

Potravina	Obsah folátů $\mu\text{g}/100\text{g}$	Potravina	Obsah folátů $\mu\text{g}/100\text{g}$
Játra husí, kachní	738	Sýr Feta	32
Játra krůtí	677	Sýr Gouda	21
Játra kuřecí	588	Jogurt odtučněný	12
Játra hovězí	251	Mozzarella	10
Vejsce - žloutek	146	Jogurt tučný	7
Vejsce – celé	47	Maso (kuřecí, hovězí, vepřové)	1-5
Sýr Camembert	62	Mléko	2

6.3. Biologická využitelnost kyseliny listové

Vstřebatelnost a biologická využitelnost kyseliny listové je různá. Závisí hlavně na její formě, stabilitě a způsobu konzumace. Rozdíl ve vstřebatelnosti je u syntetické kyseliny listové a folátů přirozeně se vyskytujících v potravě. Syntetická kyselina listová má vstřebatelnost významně vyšší. Pokud se přijme nalačno, míra absorpce je téměř 100 %. Potrava přijatá společně s kyselinou listovou snižuje její absorpci přibližně na 85 %. Vstřebatelnost folátů přirozeně obsažených v potravinách je pouze okolo 50 % a jsou zde rozdíly i mezi jednotlivými formami těchto folátů. Využitelnost kolísá podle poměru mono k polyglutamátům v potravě. Biodostupnost monoglutamátu je značně vyšší než u polyglutamátů. Obecně se zdá, že foláty jsou méně dobře využitelné z potravin rostlinného původu než ze živočišných produktů. Využitelnost kyseliny listové a folátů pro metabolismus ovlivňují různé postabsorpční faktory, jako např.: množství folátů, genetické faktory, homeostatické mechanismy, věk a pohlaví jedince, nutriční stav jedince (nedostatky železa a vitamínu C jsou spojeny se zhoršenou utilizací folátu z potravy). Vliv na biodostupnost folátů má také přítomnost antifolátů v mnoha potravinách, které inhibují folátovou konjugázu střevního kartáčového lemu a/nebo transport folátů. Interakce těchto faktorů komplikují určit míru biologické dostupnosti folátů z potravy a jejich skutečná využitelnost tak není zcela jasná. (Hrnčířová, 20017; Rucker, et al. 2007; Combs, 2012)

Využitelnost folátů v potravinách a kyseliny listové z obohacených potravin nebo jako doplňku stravy se označuje jako ekvivalent folátu. Více o tomto ekvivalentu bylo zmíněno v kapitole 6.1. Doporučené denní dávky kyseliny listové. (Společnost pro výživu, 2019)

6.4. Stabilita kyseliny listové a změny při zpracování potravin

Oproti syntetické kyselině listové, která je stabilní, patří foláty mezi nejlabilnější vitaminy při kuchyňském zpracování potravin. Jsou citlivé na působení kyslíku (oxidaci), vyšší teploty, světlo, hodnotu pH ve střevě, vyluhování a přítomnost některých složek v potravinách. Stabilitu folátů zvyšují látky s antioxidačním účinkem (antioxidanty), jako je kyselina askorbová (vitamin C)

a redukované thioly. (Hrnčířová, 2017; Společnost pro výživu, 2019) Stabilita se liší v závislosti na počtu vázaných glutamových kyselin i jednouhlíkových zbytků vázaných v poloze N-5 nebo N-10. Méně stabilní jsou redukované formy (kromě 5-methyl-THF). Nejnížší stabilitu mají redukované formy bez jednouhlíkatých sloučenin. (Combs, 2012)

K oxidaci vzduchem a dalším reakcím běžně dochází při zpracování a skladování potravin. Zejména za přítomnosti tepla, světla a/nebo kovových iontů mohou být deriváty kyseliny tetrahydrofolové (FH4) snadno oxidovány na odpovídající deriváty kyseliny dihydrofolové (FH2) (částečně oxidované) nebo kyseliny listové (plně oxidované), které mohou dále reagovat za vzniku fyziologicky neaktivních sloučenin. (Combs, 2012)

Vůči oxidaci je relativně málo citlivá pouze folová a 5-formyltetrahydrofolová kyselina, méně stálá je 5-methyltetrahydrofolová kyselina. 5-MTHF obsažen v čerstvé zelenině se v kyselém prostředí oxiduje na nestálý, ale jako vitamin využitelný 5-methyl-5,6-dihydrofolát. Ten v kyselém prostředí (během přípravy pokrmů nebo v kyselém prostředí žaludku) isomeruje na 5-methyl-5,8-dihydrofolát, který je nevyužitelný. Obě formy můžou být redukovány kyselinou askorbovou na 5-methyltetrahydrofolát. 10-formyltetrahydrofolát se snadno oxiduje až na 10-formylhydrofolát při záhřevu a také v alkalickém prostředí spontánně isomeruje na 5-formyltetrahydrofolát. Degradaci folátů vzniká velké množství produktů v závislosti na pH prostředí a dalších faktorech. Během skladování a zpracování potravin dochází ke ztrátám monoglutamátů až do 70 %, polyglutamátů kolem 50 %. Celkové ztráty z potravin se pohybují v rozmezí 10–70 % v průměru okolo 35 %. (Stránský, 2011; Velíšek, 2009)

V mase je folacin přítomen volný a vázaný na polysacharidech. Ztráty při tepelném zpracování dosahují až 95 %, většina ztrát, tak jako i při zpracování jiných potravin, nastává výluhem. V mléce závisí stabilita folátů na přítomnosti kyslíku. Při pasteraci dosahují ztráty obvykle 5 %, při výrobě UHT mléka bývají ztráty 10-20 %, při výrobě kondenzovaného mléka až 75 %. Obsah folátů v jogurtech závisí na druhu použitých mikroorganismů. Může být nižší, ale i vyšší než v použitém mléce. V tvrdých sýrech bývá 75-90 % množství přítomného v surovině. (Velíšek, 2009)

Obsah folátů v obilovinách je stejně jako obsah všech vitaminů skupiny B nejvyšší v povrchových vrstvách obilky. Obsah v mouce je závislý na stupni vymílání. Během přípravy těsta se obsah vitamínu nemění, při pečení však dochází ke ztrátám i přes 20 %. Při vaření těstovin se ztráty pohybují kolem 20 %. Při vaření a konzervování zeleniny dochází ke ztrátám folátů v průměru 20-50 %. (Velíšek, 2009)

K podstatným ztrátám obsahu folátů v potravinách může dojít v důsledku vyluhování ve varné vodě při vaření (např. byly pozorovány ztráty celkových folátů 22 % u chřestu a 84 % u kvěťáku). V důsledku těchto ztrát může zelená listová zelenina ztratit svou hodnotu jako zdroj folátů i přes svůj relativně vysoký přirozený obsah vitaminové řady uváděných hodnot. (Combs, 2012) Ve studii Gazzali a spol. (2016) bylo prokázáno, že teploty nižší než 180 °C nezpůsobují degradaci kyseliny listové, že vysoké pH je pro kyselinu listovou příznivé a že jak UV A, tak UV B světelné paprsky by mohly kyselinu listovou degradovat.

6.5. Fortifikace potravin kyselinou listovou

Fortifikaci neboli obohacování potravin definuje WHO jako přidavek jedné nebo více esenciálních živin za účelem prevence nebo odstranění prokázané výživové deficiencie živin u obyvatelstva či jeho určité skupiny. Esenciální živinou je látka běžně přijímaná jako složka potravy, která je potřebná k růstu, vývoji a zachování zdraví, a kterou organismus nedokáže v odpovídajícím množství syntetizovat. Pro přidávání mikroživin do potravin se kromě fortifikace používají i další termíny jako restituce (obnovení), standardizace a suplementace. Restituce znamená přidavek těch esenciálních živin, které se ztratily během výroby, skladování a manipulace s potravinou, v takovém množství,

kteře měla původní potravina před zpracováním. Standardizace je přidání živin do potraviny tak, aby se vyrovnaly přirozené odchylky a suplementace přidávání živin, které nejsou v potravine původně obsaženy, nebo pouze v minimálním množství. (Fórum zdravé výživy)

Mezi vitamíny, které se u nás mohou používat k fortifikaci bez speciálního schvalování patří také kyselina listová. Legislativně je obohacování ošetřeno ve vyhlášce č. 53/2002 Sb. Povoleny mikronutrienty se mohou potraviny obohacovat do výše hodnoty stanoveného procentuálního podílu referenční látky. (Fórum zdravé výživy; Stránský, 2011)

Obohacování potravin kyselinou listovou je v některých zemích povinné (např. Kanada, USA, Švédsko), jinde dobrovolné (např. ČR, Austrálie, Francie, Německo) a někde je to zákonem zakázáno (např. Dánsko). Od roku 2011 se v 57 zemích světa musí kyselina listová povinně přidávat do mouky, případně jiných produktů jako prevence vrozených vývojových vad. V České republice je ovšem fortifikace kyselinou listovou pouze dobrovolná. (Hrnčířová, 2017)

Fortifikace potravin je opatřením pro zlepšení saturace obyvatelstva kyselinou listovou. Aby toto opatření bylo účelné a žádoucí, musí být splněny následující podmínky:

- příjem folátu je u většiny obyvatelstva pod doporučenými dávkami
- potravina, která má být obohacena, musí být konzumována většinou obyvatelstva v množství, které zaručuje relevantní přínos k saturaci
- folát je v suplementované potravine při optimálním skladování a zpracování potraviny stabilní
- folát je z obohacené potraviny dobře využitelný
- excesivní přísun spojený s rizikem nežádoucích účinků je vyloučen

Z těchto podmínek vyplývá, že k obohacení jsou vhodné pouze základní potraviny, které se objevují v každodenním jídelníčku. Ze zkušeností z USA, Kanady a Německa je vhodnou potravinou k obohacení mouka a výrobky z obilovin. Výsledkem této fortifikace v USA a Kanadě bylo snížení výskytu defektů neurální trubice až o 50 %. Syntetická kyselina listová se z výrobků velmi dobře resorbuje, což ukázaly studie s obohacným chlebem, těstovinami a rýží, které prokázaly využitelnost kyseliny listové až z 85 %. (Stránský, 2011)

Mezi potraviny fortifikované kyselinou listovou, které jsou dostupné u nás v ČR, patří některé cereálie, oplatky, nebo džusy. Bohužel není jednoduché tyto potraviny dohledat. Obsah kyseliny listové zjistí zákazník na obalu potraviny, kde by měl být uveden výrobcem ve složení potraviny. Mezi konkrétní fortifikované produkty patří např. některé cereálie od značky Nestlé. Výrobce uvádí, že cereálie Cini Minis obsahují ve 100 g 164 µg kyseliny listové. Cereálie Bona Vita Dobrá vláknina, obsahují 125 µg kyseliny listové ve 100 g výrobku. Obohacené kyselinou listovou by podle uvedeného složení měly být také sušenky Opavia BeBe Dobré Ráno a BeBe Dobré Ráno Naměkko. Z fortifikovaných nápojů je dostupný např. džus Multivitamin od značky Relax, který obsahuje 30 µg kyseliny listové/100 g. Bezlepková oplatka Celi hope mléčná obsahuje 200 µg kyseliny listové/100 g. (Nestlé, 2021; Fér potravina)

6.6. Doplnky stravy – suplementace kyseliny listové

Definice doplňků stravy jsou uvedeny v zákoně o potravinách a ve směrnici EU. Jedná se o potraviny určené k přímé spotřebě, jejichž účelem je doplňovat běžnou stravu a které se odlišují od potravin pro běžnou spotřebu vysokým obsahem vitamínů, minerálních látek nebo jiných látek s nutričním či fyziologickým účinkem. Cílem je doplnění běžné stravy na úroveň příznivě ovlivňující zdravotní

stav konzumenta. Doplnky stravy existují obvykle ve formě tablet, kapslí, prášků nebo tekutin. Existuje široká škála živin, bylin i dalších látek, které mohou být v doplňcích stravy přítomny. Pro výrobu doplňků stravy lze používat pouze vitaminy a minerální látky, a to pouze ve stanovených formách tak, jak byly schváleny Evropským úřadem pro bezpečnost potravin (EFSA). Jsou uvedeny jak v citované směrnici EU, tak v české vyhlášce č. 58/2018 Sb., o doplňcích stravy a složení potravin. (Michalová, 2007; SÚKL, 2010; Zákon č. 110/1997 Sb.; Směrnice Evropského parlamentu a Rady č. 2002/46/ES)

Do doplňků stravy i k obohacování potravin se používá především synteticky vyrobená forma kyseliny listové, chemickým názvem kyselina pteorylmonoglutamová. Její doporučené množství v denní dávce v doplňku stravy představuje 200 µg. Nejvyšší přípustné množství v denní dávce je stanoveno na 1 mg. Aby organismus mohl kyselinu listovou využít, musí ji nejdříve metabolizovat na aktivní formu folátu 5-MTHF. K tomu je nezbytný specifický enzym MTHFR. Nicméně, jak již bylo zmíněno v kapitole 5.4., až u 40 % populace může být přítomna genetická mutace, snižující aktivitu tohoto enzymu. Důsledkem je, že organismus u těchto jedinců nedokáže přeměnit dostatečné množství kyseliny listové na aktivní folát. Ženy plánující těhotenství a těhotné ženy do 3. měsíce by přitom měly denně přijímat nejméně 400 µg kyseliny listové a od 4. měsíce až 600 mikrogramů denně. Doporučuje se také její užívání už tři měsíce před početím, ale také během těhotenství a kojení. Vzhledem k vysokému procentu mutací snižujících aktivitu MTHFR se ukazuje být efektivnější substituovat ženy přímo metabolitem kyseliny listové metylfolátem, jehož klinický účinek není závislý na aktivitě MTHFR uživatelky a díky tomu má metylfolát vyšší biologickou dostupnost než kyselina listová a dosahuje vyšších hladin i v mateřském mléce. Existuje více forem methylfolátu, např. jeho kalciová sůl, která je označována jako 3. generace folátů. Glukosaminová sůl metylfolátu je označována jako 4. generace folátů a má vyšší stabilitu, rozpustnost a biologickou dostupnost než sůl kalciová - při stejné jednorázové dávce vykazuje o 20 % vyšší hladinu metylfolátu v krvi. (Fait, 2014; Společnost pro výživu, 2019; Koucký, 2011)

Bailey a Ailing (2018) ve své studii zkoumali farmakokinetiku kyseliny listové a 5-MTHF za účelem nalezení spolehlivé dávky pro rychlé zlepšení stavu folátu u těhotných žen. Celkový obsah folátu v séru se během prvních čtyř dnů zvyšoval mnohem rychleji u žen, kterým byly podávány dávky 7,5 mg 5-MTHF než při stejných dávkách kyseliny listové. Téměř všechny ženy, kterým bylo podáváno 7,5 mg 5-MTHF (každých 12 hodin, celkem pět dávek), téměř okamžitě dosáhly 50 nM celkového sérového folátu. Navíc by tato hladina mohla být udržována následným podáváním 0,4 mg/den kyseliny listové. 5-MTHF tedy umožňuje doplňování zásob folátu rychleji a rovnoměrněji než kyselina listová.

Nedostatek kyseliny listové v obecné populaci je poměrně častý, a to i v průmyslově vyspělých zemích. Z nutričního hlediska však není účelné doporučovat zdravým osobám potravní doplňky, protože pestrou a plnohodnotnou stravou lze zajistit dostatečný příjem prakticky všech živin. Výjimkou je ale cílená suplementace rizikových skupin, kterými jsou ženy v reprodukčním věku, těhotné, kojící, starší osoby a speciální indikace. (Stránský, 2011; Michalová, 2007)

Při užívání kyseliny listové ve formě doplňku stravy je také třeba brát na vědomí možné interakce s jinými přijímanými látkami. Některé léky či alkohol mohou snižovat efektivitu suplementace. Více bude rozebráno v následující kapitole.

6.7. Interakce mezi kyselinou listovou a jinými látkami

6.7.1. Interakce mezi kyselinou listovou a užívanými léky

Vitaminy společně s léčivy mohou vytvářet různé typy interakcí, farmakodynamické a farmakokinetické, které mohou ovlivnit jak vlastní farmakoterapii, tak se podílet na změnách plazmatických hladin vitaminů. Některé léky mohou narušit absorpci a metabolismus kyseliny listové. (Hronek & Kovařík, 2012)

Metotrexát je cytostatikum, které zpomaluje proliferaci nádorových buněk. Je strukturním analogem kyseliny listové, který působí jako její antimetabolit a inhibuje tak enzym dihydrofolátreduktázu. V důsledku toho nevzniká tetrahydrofolát, který je nezbytný k přenosu jednouhlíkatých fragmentů. Tím je znemožněna syntéza nukleotidů, konkrétně thyminu, pro kterou je tetrahydrofolát nutný jako koenzym. Tento antiproliferativní účinek je základem pro roli léku v léčbě rakoviny, revmatoidní artritidy, lupénky, astmatu a zánětlivých onemocnění střev. Při nedostatku folátu se metotrexát obvykle používá s doprovodným a pečlivě sledovaným doplňováním folátu, aby se snížil výskyt vedlejších účinků na sliznici a trávicím traktu. Pacienti užívající methotrexát mohou také vykazovat významné zvýšení plazmatických koncentrací homocysteinu související s chronickým užíváním tohoto léku. (Drugs.com, 2017)

Dalším analogem kyseliny dihydrolistové, který působí jako antimetabolit s cytostatickými účinky je Aminopterin. Podobně jako metotrexát blokuje regeneraci tetrahydrofolátu. Jedná se o lék s prokázaným teratogenním účinkem, který způsobuje např. vrozené vývojové vady lebky a skeletu. (Hronek & Kovařík, 2012)

Fluorouracil je dalším důležitým chemoterapeutickým léčivem, který má antifolátový účinek. Inhibuje aktivitu enzymu thymidylátsyntázy, který se podílí na syntéze tymidinu, a tedy syntéze DNA. Mechanismus účinku léčiva zahrnuje počáteční tvorbu komplexu mezi thymidylátsyntázou a folátem, ve kterém léčivo působí jako substrát. Mezi další léky, u kterých bylo zjištěno ovlivnění stavu anebo metabolismu folátu, patří např. antikonvulziva (difenylhydantoin, fenobarbital), protizánětlivé léky (salicyláty, sulfasalazin), perorální antidiabetika (metformin), draslík šetřící diuretika (spironolakton, triamteren), antibiotika (isoniazid), vazodilatancia (hydralazin), hormonální antikoncepce. Perorální dávky v množství ≥ 350 μg kyseliny listové snižují absorpci zinku z gastrointestinálního traktu a dlouhodobé užívání tak může vést ke vzniku deficitu zinku. (Combs, 2012, Rucker, et al. 2007; Hronek & Kovařík, 2012)

6.7.2. Interakce mezi kyselinou listovou, alkoholem a kouřením cigaret

Alkohol narušuje vstřebávání folátů, jejich vychytávání v játrech a reabsorpci v ledvinách. Dlouhodobá konzumace alkoholu ve velkých dávkách může přispět ke vzniku deficitu kyseliny listové. Schopnost alkoholu ovlivnit absorpci folátů je spojena s jeho negativním účinkem na funkci dvou proteinů, které jejich absorpci regulují. Chronická konzumace alkoholu spojená s dietou s nízkým obsahem kyseliny listové může vést k narušení metabolismu folátů v játrech. U chronických alkoholiků bylo pozorováno zvýšené vylučování folátů močí. Kromě těchto abnormalit v metabolismu vitamínu vede často kombinace dlouhodobého alkoholismu a nedostatečného příjmu kyseliny listové stravou až k rozvoji alkoholického poškození jater. (Rucker, et al. 2007)

Ke snížení plazmatické hladiny folátů i jejich koncentrace v erytrocytech přispívá nejen chronický alkoholismus, ale také kouření cigaret. U kuřáků bývají hladiny folátů v plazmě nižší o více než 40 % oproti nekuřákům. Dále bylo zjištěno, že více než 80 % alkoholiků má nízkou plazmatickou

hladinu folátů a okolo 40 % z nich má snížené množství erytrocytů, což odpovídá podobné incidenci megaloblastózy v kostní dřeni u pacientů s alkoholismem. Tyto následky pravděpodobně souvisí s nízkým příjmem potravin bohatých na kyselinu listovou a nahrazováním potravy alkoholem, a také s přímými metabolickými účinky, jako inhibice aktivity enzymu střevní folyl konjugázy a snížená zpětná resorpce vitamínu z moči. (Combs, 2012)

7. Preventivní účinky kyseliny listové ve výživě

7.1. Význam kyseliny listové ve výživě těhotných

V období těhotenství se zvyšují nároky organismu na výživu. Zvyšuje se nebezpečí nedostatečného příjmu energie a živin, dochází také k větším ztrátám živin z organismu. Správná výživa je důležitá jak pro matku, tak pro růst a vývoj plodu. Stav výživy těhotné ženy má vliv na průběh těhotenství i na pozdější zdravotní stav dítěte. Během těhotenství často dochází k hypovitaminóze kyseliny listové, protože je tímto vitamínem přednostně zásobován plod. Uvádí se, že až 60 % těhotných žen trpí deficitem kyseliny listové. Ten je spojován se vzestupem těhotenských problémů (spontánní potrat či předčasný porod) a vrozených vývojových vad (především defekty neurální trubice). Dostatek kyseliny listové je podstatný pro vývoj mozku plodu, metabolismus neesenciálních aminokyselin, syntézu DNA, metylační reakce a další důležité metabolické procesy, které úzce souvisí s buněčnou proliferací a diferenciací. (Grofová, 2010; Doležálková & Unzeitig, 2014)

Protektivní význam kyseliny listové ve vztahu k defektům neurální trubice byl jednoznačně potvrzen. Studie ukázaly, že prekoncepční suplementace kyseliny listové snižuje incidenci tohoto defektu až o 50 %. U žen s postižením plodu defektem neurální trubice v předchozím těhotenství se může rekurence vady snížit až o 70 %. Kyselina listová se aktivně vylučuje do mléka. V kolostru je její hladina relativně nízká, ale postupem času její koncentrace v mléce roste. Laktace udává na příjem tohoto vitamínu relativně vysoké nároky. Obsah kyseliny listové v mateřském mléce je udržován nezávisle na jejím nutričním příjmu. Suplementací kyseliny listové se nezvyšuje sekrece do mateřského mléka, ale zlepšuje se stav kojící ženy. (Hronek, 2004) Významný vzestup metabolitů kyseliny listové v moči ve druhém trimestru těhotenství a návrat k výchozím hodnotám po porodu dokládají zvýšený katabolismus vitamínu v těhotenství. (Kasper, 2015)

7.1.1. Prevence vrozených vývojových vad

Vrozené vývojové vady (dále jen vývojové vady, VV) jsou patologické odchylky od normálního prenatálního vývoje plodu, vznikající v důsledku genetických poruch nebo působení vnějších vlivů během těhotenství. Mezi vnější vlivy se řadí zejména onemocnění matky (zarděnky, příušnice, toxoplazmóza), teratogenní látky (vedlejší účinky léků, alkohol, drogy), škodlivé fyzikální vlivy (rentgenové a ionizující záření) a v neposlední řadě také nedostatek vitamínů, a to především kyseliny listové. V mnoha případech ovšem vznikají vrozené vady na základě více faktorů, které lze jen obtížně určit. Klinická závažnost VV závisí na typu, charakteru, rozsahu, a lokalizaci vady. Může se jednat o drobné kosmetické odchylky až po stavy neslučitelné se životem. Podle údajů Národního registru vrozených vad České republiky se u nás stále rodí 3–5 % dětí s určitým typem vrozené vady. (Gregor, Calda & Šípek jr, 2013; Doležálková & Unzeitig, 2014; ÚZIS)

Základními opatřeními pro časný záchyt VV jsou metody prenatálního screeningu a cílené prenatální diagnostiky. Počty prenatálně diagnostikovaných VV u nás dlouhodobě rostou. V případě závažných či se životem neslučitelných VV je v řadě zemí světa, včetně České republiky, v souladu s platnou legislativou možné těhotenství předčasně ukončit (v ČR je podle zákona o umělém přerušeni těhotenství legální ukončit těhotenství z genetických důvodů do 24. týdne těhotenství). (Zákon č. 66/1986 Sb.; Gregor, Calda & Šípek jr, 2013)

Významnými opatřeními proti samotnému vzniku VV jsou metody primární prevence VV. Jedná se o soubor doporučení a návodů, jejichž hlavním účelem je minimalizovat riziko vzniku VV. Hlavním doporučením primární prevence VV je plánované rodičovství. V případě neplánovaného těhotenství je totiž obtížné využít dalších doporučení, zaměřených na eliminaci možných rizikových faktorů ze života (budoucí) matky. Mezi hlavní rizikové faktory patří například alkohol a kouření, různé

infekční choroby, různá léčiva a dlouhodobá farmakoterapie či špatná kompenzace chronických nemocí, rizikové faktory pracovního prostředí. Stále častějším problémem je také obezita žen ve fertilním věku, která je taktéž spojena se zvýšeným rizikem VV (souvislost obezity s metabolickým syndromem či diabetem). Prevencí je tedy i změna životního stylu. Specifickou roli zde má plánované užívání kyseliny listové v perikoncepčním období, které prokazatelně snižuje incidenci vývojových vad, a to především defektů neurální trubice, které patří k těm nejčastějším. Nedostatečnému příjmu kyseliny listové je přisuzována i řada dalších vrozených vad, jako např. srdeční vady, defekty končetin, rozštěpy patra a rtu, kongenitální hydrocefalus, vady urogenitálního traktu a také zvýšená incidence Downova syndromu. Kyselina listová je v současnosti zřejmě jedinou látkou, jejímž užíváním v perikoncepčním období lze aktivně snížit riziko alespoň jednoho typu VV. (Gregor, Calda & Šípek jr, 2013; Doležálková & Unzeitig, 2014)

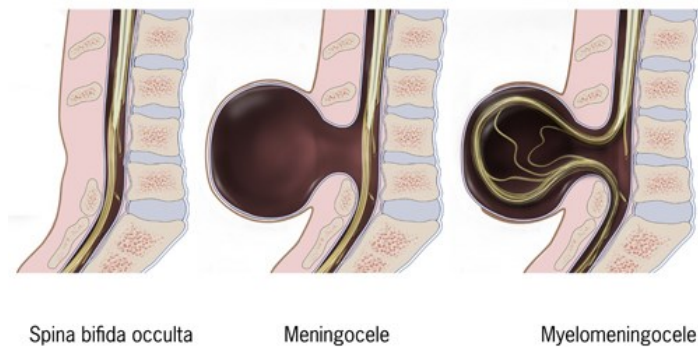
Primární prevence VV ovšem není a ani nemůže být 100% úspěšná. Důvodem je, že jsme schopni ovlivnit jen určité faktory způsobující VV. Nepreventabilní faktory jako např. nové genetické mutace, prakticky nejsme schopni ovlivnit. Dalším důvodem je skutečnost, že většina postupů primární prevence má charakter návodů či doporučení, jejichž dodržování je zcela dobrovolné. (Šípek, Gregor, Calda & Šípek jr, 2013; Šípek, et al., 2008-2009)

7.1.1.1. Defekty neurální trubice

Defekty neurální trubice (NTD – neural tube defects) neboli rozštěpové vady centrální nervové soustavy (CNS) patří k nejčastějším typům vrozených vad a postihují přibližně 1,4–1,6 z 1 000 novorozenců. K jejich vzniku dochází již v počátku fetálního vývoje, kdy probíhá proces vytváření neurální trubice – během prvních 3–4 týdnů vývoje vzniká úzký kanál, který se stává základem míchy a mozku. Pokud se tento kanál neuzavře po celé délce, dochází ke vzniku otevřených defektů. Vážnost poškození záleží na lokalizaci a okolních tkáních. Uzavírání neurální trubice je obvykle dokončeno do 28. dne těhotenství, tedy obvykle ještě před jeho zjištěním. Proto je doporučeno užívat kyselinu listovou prekoncepčně v rámci plánování početí. NTD jsou prokazatelně spojeny s nižší hladinou folátů v erytrocytech. (Fait, 2014; Labtestonline, 2011)

Dvěma nejčastějšími defekty neurální trubice jsou *spina bifida* (50 %) a *anencefalie* (40 %). Vzácnějšími vadami jsou *encefalokélu* (8,5 %), *inincefalie* (1,5 %) a *craniorachischis* neboli *iniencefalie* (1,5 %). Incidence těchto vad v populaci se výrazně liší v závislosti na etnických, geografických, sezónních a sociálních faktorech. (Frisová, 2013; Labtestonline, 2011)

Nejčastějším typem defektu neurální trubice je *spina bifida*, neboli rozštěp páteře. Rozlišují se dvě varianty této vývojové vady, a to *spina bifida occulta* a *spina bifida aperta*. *Spina bifida occulta* je uzavřený rozštěp páteřních obratlů, kdy není obsah míšního kanálu otevřen na povrch těla a nedochází k výhřezu míšních obalů a míšní tkáně. Hodně jedinců s tímto postižením je asymptomatických a své postižení zjistí náhodně při rtg. vyšetření, které je prováděno z jiných důvodů. *Spina bifida aperta* je otevřená varianta defektu, s určitou formou výhřezu. Vzniklý defekt se označuje jako meningokéla (v kýlním vaku jsou přítomny míšní obaly) či myelomeningokéla (navíc je přítomna i nervová tkáň). Tato vada je často spojena s významným neurologickým postižením s omezením motorických funkcí, otevřený defekt navíc zvyšuje riziko např. infekčních komplikací a musí být prioritně neurochirurgicky řešen již v útlém věku. Otevřená a uzavřená varianta defektu jsou vizuálně znázorněny na obrázku 6. (Frisová, 2013; Labtestonline, 2011)



Obrázek 6: Spina bifida occulta = uzavřený rozštěp páteře, Meningokéla a Myelomeningokéla = otevřené varianty rozštěpu páteře (volné dílo)

Symptomy jsou u jednotlivých případů různé, od postižení minimálního až téměř žádného, přes částečné či totální ochrnutí, ztrátu citu až k paralýze. Asi 80 % postižených má normální inteligenci, ale některé děti mohou mít problémy se vzdělavatelností. Fyzické komplikace často zahrnují Arnold Chiariho malformaci (zmenšení zadní komory lební a vyústění páteřního kanálu) nebo hydrocefalus, gastrointestinální poruchy, močové a střevní dysfunkce, obezitu, deprese a zvýšený sklon k latexovým alergiím. Druhým nejčastějším typem defektu neurální trubice je *anencefalie*, jejímž výsledkem je nedostatečný vývoj značné části mozku a téměř či zcela pak chybí lebeční kryt a mozková tkáň v úrovni očních. Často je to způsobeno toxickým účinkem plodové vody na obnaženou mozkovou tkáň. Incidence je asi 1:1000. Na rozdíl od rozštěpu páteře, který je slučitelný se životem, při anencefalii plod většinou umírá ještě v děloze. Živě narození jsou obvykle bez vědomí, nejsou schopni cítit bolest, jsou hluší a slepí. Většina takto postižených dětí umírá do několika hodin či dní po porodu. (Frisová, 2013; Labtestonline, 2011; Doležálková & Unzeitig, 2014)

Mezi vzácnější typy defektů neurální trubice patří např. *encephalokela* – vyhrěznutí mozkové tkáně a plen z dutiny lební otvorem v lebce. Postižení mohou mít mikrocefalii nebo hydrocefalii. Prognóza závisí na závažnosti vady. Dále *iniencefalie*, při které je hlava skloněna dozadu v nepřirozeném úhlu a postižený obvykle nemá krk. Většina takových dětí nepřežívá. (Doležálková & Unzeitig, 2014)

O vztahu absolutního nebo relativního nedostatku kyseliny listové a rozštěpových vad neurální trubice se ví už dlouho. Absolutním nedostatkem kyseliny listové je myšlen její nedostatečný příjem stravou, kdy je v těhotenství její potřeba zvýšená dvakrát až třikrát oproti stavu mimo těhotenství. Relativním nedostatkem kyseliny listové se myslí porucha tvorby biologicky aktivního metabolitu 5-methyl-THF při mutacích MTHFR. Jak již ale bylo uvedeno v kapitole Genetické variace v metabolismu kyseliny listové, tak to platí jen při sníženém příjmu kyseliny listové. Vzhledem k vyšší potřebě folátů v těhotenství se proto porucha může klinicky odhalit. (Koucký, 2011)

Zatím není přesně známo, jakým způsobem nedostatek folátů ovlivňuje teratogenezi. Pravděpodobně jde o zásah do buněčného dělení, kdy lze předpokládat ovlivnění syntézy nukleových kyselin či aminokyselin, včetně narušení odbourávání homocysteinu. Plod neumí kyselinu listovou syntetizovat a je tak závislý na jejím přívodu od matky. Vlivy na vznik NTD jsou multifaktoriální zahrnující jak metabolické, tak genetické defekty, které mohou narušit normální metabolismus folátu u matky, což omezuje dodávání adekvátního množství folátu do vyvíjející se embryonální neurální trubice. Mezi další mechanismy, které se mohou podílet na etiologii NTD, patří poruchy absorpce folátu u matky a mateřských autoprotilátů, které vážou folátové receptory a mohou blokovat buněčný příjem folátu. (Koucký, 2011; Rucker, et al. 2007)

Bylo prokázáno, že suplementace kyseliny listové ve formě doplňků stravy perikoncepčně významně snižuje riziko NTD, což je hlavní objev veřejného zdraví založený na výsledcích randomizovaných

kontrolovaných intervenčních studií podpořených velkým množstvím pozorovaných dat. Konkrétně bylo zjištěno, že kyselina listová v denní dávce 0,4 mg po 3 měsíce před otěhotněním a 0,6–0,8 mg v první třetině těhotenství prokazatelně snižuje riziko chybného vývoje uzávěru neurální trubice o 35–79 %. Zahájení užívání kyseliny listové po 7. týdnu těhotenství již není z pohledu prevence vrozených vad plodu dostatečné. (Fait, 2014; Rucker, et al. 2007)

Byl také pozorován vliv fortifikace kyselinou listovou na prevalenci NTD, a to ve studiích ze Spojených států, Kanady a Chile, které naznačují, že fortifikace potravin kyselinou listovou byla spojena s významným snížením NTD, ačkoliv je odhadované snížení značně proměnlivé (19–50 %) v závislosti na typu vyhodnocovaných dat. (Rucker, et al. 2007)

7.1.2. Prevence dalších typů vrozených vad a těhotenských komplikací

Deficit kyseliny listové v organismu těhotné ženy je spojován i s dalšími vrozenými vadami, jako rozštěpy rtu a patra anebo vadný vývoj končetin. Preventivní vliv kyseliny listové užívané perikoncepčně byl prokázán také pro vrozené srdeční vady, které nejčastěji unikají screeningu. U těchto vad s incidencí 1:1 000 těhotných dochází ke snížení o 52 %, a to zejména díky snížení výskytu defektu komorového septa a malformací velkých cév. Při užívání kyseliny listové až do 2. trimestru klesá incidence vad uropoetického traktu o 85 %. (Fait, 2014)

Vysoká hladina homocysteinu v krvi je spojena se zvýšeným rizikem hypertenze, preeklampsie a předčasného odloučení placenty. (Koucký, 2011; Doležalková & Unzeitig, 2014; Zhou, Sinnathamby, Yu et al., 2020)

Za podklad řady patologií (ne vlastní příčinu) v těhotenství je považováno narušení normální funkce buněk cévní stěny, neboli dysfunkce endotelu. Jedná se o skrytý patofyziologický proces, který nemusí mít klinické vyjádření, do určité míry ho lze zvrátit, a který má celou řadu možných příčin. Tato komplexní porucha může vést v různé míře k narušení makro a mikro cirkulace. Mezi mechanismy vzniku endotelové dysfunkce patří především oxidativní stres, infekce, hyperglykemie, hyperhomocysteinémie i relativní nedostatek 5-methyl-THF. 5-methyl-THF, produkováný enzymem MTHFR, je klíčovým regulátorem endoteliální NO-syntházy, která vytváří oxid dusnatý (NO). Produkce NO je významným projevem normální funkce endotelu. Na základě toho lze předpokládat, že nedostatek 5-methyl-THF, např. při MTHFR mutacích, může hrát roli v rozvoji endotelové dysfunkce, bez ohledu na hladinu homocysteinu. Hyperhomocysteinémie je ovšem dalším možným mechanismem dysfunkce endotelu. Dysfunkci endotelu a ovlivnění mikrocirkulace vznikající placenty lze předpokládat u následujících patologických stavů v těhotenství: opakované potraty, intrauterinní růstová restrikce (IUGR), intrauterinní úmrtí plodu (IUFD) a předčasný porod. Získané údaje naznačují souvislosti poruch zpracování listové kyseliny (MTHFR mutací) s těmito patologickými stavy, v naprosté většině případů se ale jedná o multifaktoriální procesy. (Koucký, 2011)

Vztahem kyseliny listové a předčasného porodu se zabývalo již více prací. V jednom z největších výzkumných projektů, který byl publikován v r. 2009, bylo v kohortové studii hodnoceno prospektivně 35 000 žen s různě dlouhou dobou užívání folátů (kyseliny listové i aktivního metabolitu 5-methyl THF) před početím a byla zahrnuta kontrolní skupina žen, které žádnou prekoncepční suplementaci neměly. V práci bylo zjištěno, že pokud žena užívá foláty více jak jeden rok před otěhotněním a pokračuje v jejich užívání dále v těhotenství, riziko předčasného porodu před 28. týdnem je o 70% nižší a před 32. týdnem o 50% nižší. Nebyl však pozorován žádný užitek při užívání folátů před početím kratším než rok. Stejně tak nebylo pozorováno snížení incidence předčasného porodu po 32. týdnu. Lze tedy říci, že prekoncepční suplementace delší jak rok, se může

podílet na snížení rizika předčasného porodu, nicméně není jasné, jak dlouho by ženy měly pokračovat v užívání folátů dále v těhotenství. Vzhledem k dalším možným souvislostem se při neznámých negativních účincích na matku a/nebo plod nabízí pokračovat v užívání až do porodu. Navíc, za předpokladu relativně vysoké prevalence poruch zpracování kyseliny listové v populaci při MTHFR mutacích, nabízí se spíše možnost suplementace aktivním metabolitem 5-methyl-THF. (Koucký, 2011; Doležalková & Unzeitig, 2014)

Preeklampsie (PE) je závažné hypertenzní onemocnění, které se může vyskytnout během těhotenství. PE je vázaná na činnost placenty a způsobuje nedostatečné prokrvení a oksylovení plodu, což vede k obranému mechanismu ze strany nenarozeného dítěte. To se nejčastěji projeví vysokým tlakem nastávající matky. Čínská studie případů a kontrol publikovaná v roce 2020 zkoumala vztah mezi suplementací kyseliny listové a rizikem preeklampsie, se zohledněním BMI matky. Jejím výsledkem bylo, že suplementace kyseliny listové před a během těhotenství souvisí se sníženým rizikem PE, a že stav BMI před otěhotněním může ovlivnit efekt suplementace kyseliny listové na riziko PE (BMI <24 kg/m² byl spojen se sníženým rizikem PE). (Han, Guo & Yang et al., 2020)

Jiná Čínská studie se zaměřila na to, zda podávání vysokých dávek kyseliny listové u těhotných žen s vysokým rizikem preeklampsie může zabránit jejímu vzniku. Tato studie poskytla důkazy o tom, že vysoké dávky doplňku kyseliny listové (4 mg/den) podávané 3 měsíce před těhotenstvím a následně po celou dobu těhotenství, snižují recidivu preeklampsie (ve srovnání s podáváním nižší dávky 0,4 mg kyseliny listové na den). (Zheng, Huang & Kong, 2020)

V souvislosti s poruchou metabolismu kyseliny listové je diskutovaná také problematika žilní trombózy. Dosud není k dispozici spolehlivý důkaz o tom, že by mutace MTHFR byla spojena s vyšším rizikem tromboembolie v těhotenství. Některé údaje ukazují, že se u MTHFR mutací riziko žilní trombózy může objevit pouze v případě nedostatečného příjmu folátů, a to ještě při prokázané hyperhomocysteinemii. z možností sekundární prevence některých těhotenských patologií. (Koucký, 2011)

7.2. Hyperhomocysteinémie

Hyperhomocysteinémie je metabolický syndrom, který je podmíněn interakcí řady exogenních (kouření, hormonální a nutriční vlivy) a endogenních příčin (genetické vlivy, chorobné stavy, stárnutí). Porucha metabolismu homocysteinu se projevuje jeho zvýšenou koncentrací v plazmě – hyperhomocysteinémií a/nebo v moči – homocystinurií. Za fyziologické jsou považovány plazmatické koncentrace Hcy do 16,00 μmol/l nalačno. Hyperhomocysteinémie se rozděluje na mírnou, s plazmatickými koncentracemi mezi 16 a 30 μmol/l, středně závažnou s 31-100 μmol/l a těžkou s více než 100 μmol/l. Nejvyšší hodnoty jsou typické pro klasickou homocystinurii. Mírná nebo střední hyperhomocysteinémie je přítomna u heterozygotů homocystinurie nebo přenašečů dědičných enzymových deficitů metabolismu vitaminů B12, B6 či kyseliny listové. (Žák & Zeman, 2004; Vlachová 2004; Hyánek, 2002)

Zvýšené plazmatické hladiny homocysteinu se mohou vyvinout jednak jako následek vrozených enzymových defektů, jednak jako následek nedostatku vitaminů nezbytných k metabolismu homocysteinu, kterými jsou vitaminy B12, B6 a kyselina listová. Může se ale také jednat o zvýšený přísun metioninu v podobě např. nadměrné konzumace převážně živočišných bílkovin, zvýšená konzumace kávy a alkoholu. Predispozice ke zvýšené hladině homocysteinu má mužské pohlaví, ale zvyšuje se také u žen v menopauze. Hladina homocysteinu také stoupá se zvyšujícím se věkem, u kuřáků a uplatňují se i vlivy rasové. Zvýšená hladina Hcy provází také řadu onemocnění, jako např.

renální insuficienci, některá nádorová onemocnění, systémový lupus erytematodes, Alzheimerova choroba, Downův syndrom a další. Hladinu homocysteinu zvyšují též některé léky, např. antikoncepční, cytostatika, některá perorální kontraceptiva, diuretika aj. (Žák & Zeman, 2004; Vlachová 2004)

Předpokládá se, že až 50 % hyperhomocysteinémie může být podmíněno geneticky. Při vrozeném enzymovém defektu jde o homocysteinurii, autozomálně recesivní dědičné onemocnění, které je hned po fenylketonurii nejčastější vrozenou metabolickou chorobou. Jde o defekt enzymu cystationinsyntetázy, který přeměňuje homocystein na cystationin. Mezi genetickými faktory je dále poměrně vysoká mutace enzymu MTHFR (polymorfismus C677→T). V běžné populaci je prevalence heterozygotní formy hyperhomocysteinémie odhadována na 0,01–0,02 a všech forem až na 0,20. U osob s rozvinutou aterosklerózou je její výskyt asi o 10–40 % vyšší. (Hyánek, 2002; Vlachová, 2004)

Vysoké koncentrace homocysteinu v plazmě podporují rozvoj především aterosklerotických cévních onemocnění a defektů nervové trubice. Hyperhomocysteinémie multifaktoriálně ovlivňuje cévní strukturu a koagulační systém. Jde zejména o funkční a morfologické postižení endotelu s nedostatečnou obnovou endoteliálních buněk. Hyperhomocysteinémie indukuje zvýšenou adhezivitu a agregabilitu trombocytů, proliferaci buněk hladkého svalstva arteriální stěny, způsobuje poruchy koagulační kaskády a fibrinolýzy, mění expresní aktivitu klíčových prvků vaskulárních zánětlivých markerů aterosklerózy, má vliv na vulnerabilitu aterosklerotických plátů. Předpokládá se, že tyto účinky jsou zprostředkovány především oxidací homocysteinu a následnou produkcí kyslíkových radikálů. Chemickou modifikací nízkodenzitních lipoproteinů prohlubuje dále oxidační stres a poruchy fibrinolýzy, snižuje vazodilataci. (Vlachová, 2004; Edukafarm, 2003)

Zvýšená koncentrace homocysteinu je nezávislým rizikovým faktorem kardiovaskulární morbiditativy a mortality, zejména u nemocných s anamnézou ischemické choroby srdeční a chronického onemocnění ledvin, cévních onemocnění mozku, ischemické choroby dolních končetin, i hluboké žilní trombózy. Zvýšená koncentrace celkového homocysteinu o 5 $\mu\text{mol/l}$ zvyšuje KV riziko cca 1,6x u mužů a 1,8x u žen, nezávisle na dalších rizikových faktorech postižení koronárních cév a také zvyšuje riziko cerebrovaskulárních onemocnění cca 1,5x. Hyperhomocysteinémie je často pozorována u pacientů s chronickým onemocněním ledvin se špatnou funkcí ledvin při odstraňování homocysteinu z krve. Hyperhomocysteinémie může též souviset s poruchami kognitivních funkcí, demencí a zvýšeným rizikem komplikací v těhotenství (spontánní potraty, preeklampsie, předčasný porod, nízká porodní hmotnost, předčasné odloučení placenty, infarkt placenty). Těhotenská hyperhomocysteinémie je spojena s novorozeneckými defekty jako jsou otevřené defekty neurální trubice, orofaciální rozštěpy a Downův syndrom. Léčba hyperhomocysteinémie spočívá v podávání farmakologických dávek kyseliny listové, vitamínu B12 a B6, které mohou snížit koncentrace celkového homocysteinu zhruba o 25–30 %. Z klinických studií vyplývá, že kyselina listová v denních dávkách 0,5 až 5,7 mg po dobu 4 týdnů snižuje koncentraci homocysteinu přibližně o 25 %. (Edukafarm, 2003; Zeman & Žák, 2004; Hyánek, 2002)

7.3. Kardiovaskulární onemocnění

Kardiovaskulární onemocnění (KVO) jsou onemocnění srdce a cév, které patří celosvětově mezi nejčastější příčiny úmrtnosti. Jejich příčinou je ateroskleróza, kdy dochází k zúžení cév a nedostatečné prokrvenosti (ischémii). Mezi tyto onemocnění patří především ischemická choroba srdeční, která může způsobit anginu pectoris a infarkt myokardu. Mezi další onemocnění patří mozková mrtvice, kdy dochází k zúžení mozkových tepen, což vede k ischemickému poškození

mozku nebo spontánnímu nitrolebnímu krvácení. Třetí oblastí poškození jsou periferní tepny, zejména tepny dolních končetin. Na vzniku KVO se podílí mnoho faktorů, ovlivnitelných i neovlivnitelných. Nejdůležitějšími rizikovými faktory jsou obezita (zejména abdominální), nepříznivé lipidové spektrum, diabetes mellitus 2. typu, vysoký krevní tlak, kouření a sedavý způsob života. KVO patří mezi civilizační choroby, kterým se lze správnou prevencí vyhnout. (Kasper, 2015)

Mnoho provedených studií poukazuje na hladinu homocysteinu jako ovlivnitelného rizikového faktoru pro KVO. Jak již bylo uvedeno v předchozí kapitole, vysoké koncentrace homocysteinu v plazmě ovlivňují cévní strukturu a koagulační systém a podporují rozvoj aterosklerotických cévních onemocnění. V experimentálních studiích bylo prokázáno, že homocystein způsobuje oxidační stres, poškozuje endotel a zvyšuje trombogenitu. Epidemiologické studie obecně prokázaly nezávislou a stupňovitou souvislost mezi hladinami homocysteinu a kardiovaskulárním rizikem. Údaje naznačují, že i mírné až střední zvýšení homocysteinu zvyšuje kardiovaskulární riziko. Taková zvýšení jsou běžná a lze je korigovat. Metaanalýza výsledků 27 průřezových a případových kontrolních studií přisoudila 10 % celkových onemocnění koronárních tepen hyperhomocysteinémii. Tato analýza ukázala, že zvýšení hladiny homocysteinu v plazmě o 5 μM zvýšilo riziko onemocnění koronárních tepen stejně jako zvýšení celkového cholesterolu v plazmě o 0,5 mM (20 mg/dl). Podle dostupných důkazů se uvažuje o tom, že homocysteinémie nemusí být významný rizikovým faktorem KVO pro zdravé jedince, ale je jím u jedinců ve zvýšeném riziku. (Combs, 2012)

Kyselina listová může snižovat plazmatické hladiny homocysteinu, a proto má potenciální roli v prevenci KVO. Kyselina listová je nejdůležitější dietní determinantou homocysteinu – denní suplementace 0,5 až 5,7 mg snižuje hladiny homocysteinu v plazmě přibližně o 25 %. Takovýto dosažený pokles je spojen se snížením relativního rizika ischemické choroby srdeční o 11–16 %, flebotrombózy o 25 % a mozkových cévních příhod o 19–24 %. (Zeman & Žák, 2004; Edukafarm, 2003)

Bylo také zjištěno, že kardiovaskulární cílové hodnoty se mění s hladinou folátu v plazmě nezávisle na homocysteinu. Kromě toho bylo prokázáno, že suplementace folátem odvrací endoteliální dysfunkci nezávisle na jejím účinku na snižování hladiny homocysteinu v plazmě, snižuje arteriální tlak a zvyšuje koronární dilataci. Tyto účinky pravděpodobně zahrnují stimulaci produkce oxidu dusnatého kyselinou 5-methylfolovou a možná také inhibici oxidace lipoproteinu kyselinou listovou. (Combs, 2012)

Nicméně některé intervenční studie k sekundární prevenci KVO suplementací kyselinou listovou nebo její kombinací s vitamínem B12 a vitamínem B6 došly k závěru, že užívání těchto vitaminů nemá žádný klinický efekt na snížení rizika opakovaných kardiovaskulárních příhod. Ani metaanalýza intervenčních studií nemohla prokázat žádné signifikantní snížení rizika pro KVO suplementací kyselinou listovou. Novější metaanalýza však poukázala na signifikantní snížení rizika cévních mozkových příhod suplementací kyselinou listovou v primární prevenci této nemoci. Požaduje se ovšem provedení dalších studií, než může být preventivní účinek kyseliny listové prokázán a suplementace doporučena. (Stránský, 2011; Schwingshackl, et al., 2017; Chrysant, et al., 2018)

Metaanalýzy z roku 2017 a 2019, které zkoumaly účinnost suplementace kyseliny listové u pacientů s KVO, obě naznačují významné snížení rizika cévní mozkové příhody (CMP) u těchto pacientů. (Wang, et al., 2019; Tian et al., 2017) Další ze studií zkoumala souvislost hladin folátu a zvýšeného rizika úmrtí na KVO u dospělých jedinců s hypertenzí. Výsledkem bylo, že nízké i vysoké sérové koncentrace folátu byly spojeny se zvýšeným rizikem úmrtí na KVO ve srovnání s dospělými se střední koncentrací folátu v séru. (Nkemjika, et al., 2020) Podle přehledu Sunkara, A., & Raizner, A.

má kyselina listová možnou roli v prevenci CMP zejména v populacích s nízkou výchozí hladinou folátu nebo v oblastech, kde chybí obohacení potravin kyselinou listovou. (Sunkara & Raizner, 2019)

Přehledový článek z roku 2020 uvádí, že suplementace kyseliny listové by měla být doporučena každému pacientovi, který má zvýšenou hladinu homocysteinu, a tato hladina by měla být měřena a léčena v raném věku, protože kyselinu listovou lze snadno získat a může pravděpodobně snížit KVO a další škodlivé patologické procesy u vysoce rizikové populace. (Kaye, Jeha & Pham, et al., 2020)

7.4. Nádorová onemocnění

Je zkoumána souvislost mezi kyselinou listovou a nádorovými onemocněními. Jednouhlíkatý metabolismus zahrnuje síť biochemických drah, ve kterých probíhají interakce mezi homocysteinem, methioninem a kyselinou listovou (a také vitaminy B6, B12 a B2). Tyto dráhy se podílejí na metylaci DNA a RNA, čímž ovlivňují genovou stabilitu a expresi. Kyselina listová je hlavním zdrojem methylové skupiny. Předpokládá se, že dysregulace jednouhlíkatého metabolismu podporuje karcinogenezi. Nedostatečný příjem kyseliny listové vede k nukleotidové nerovnováze a chybné inkorporaci uracilu do DNA, což je spojováno se zvýšeným rizikem rakoviny. Nadměrný obsah uracilu v DNA a také zvýšený počet chromozomálních zlomů byl pozorován u lidí s deficitem kyseliny listové a suplementací kyseliny listové bylo možné tento stav zvrátit. Nedostatek kyseliny listové může také vést ke změnám v metylaci DNA, tj. "epigenetický" mechanismus, kterým je funkce genu selektivně aktivována nebo inaktivována. Předpokládá se, že nedostatek folátu může změnit normální methylační vzorce v neoplastických buňkách, což by mohlo být potenciálně spojeno s inaktivací tumor supresorových genů. (Combs, 2012; Rucker, et al. 2007; Jie, Chang & Yi, et al., 2021)

Deficit kyseliny listové bývá spojován se zvýšeným rizikem rakoviny tlustého střeva, děložního čípku, plic, ústní dutiny a hltanu, hlavy a krku, slinivky a močového měchýře. Nízký příjem kyseliny listové v kombinaci s vysokým příjmem alkoholu může také zvýšit riziko rakoviny prsu. (Combs, 2012) Nejvíce zkoumaným z nich je kolorektální karcinom, u kterého výsledky naznačují ochranný účinek vitamínu. (Combs, 2012) Některé studie uvádí, že kyselina listová může snižovat rozvoj kolorektálního karcinomu prostřednictvím inhibice proliferace a migrace nádorových buněk. (Ting, Lee, Huo, et al., 2019) Protichůdné výsledky však přinesla studie z roku 2018, která sledovala spojitost mezi rizikem rakoviny a suplementací kyseliny listové a vitamínu B12. Podle této studie byla suplementace těmito dvěma vitamíny spojena se zvýšeným rizikem kolorektálního karcinomu. Autoři ale uvádí, že k potvrzení těchto zjištění jsou zapotřebí další a rozsáhlejší studie. Otázkou je také, zda by suplementace kyselinou listovou a vitamínem B12 měla být omezena pouze na pacienty s prokázaným deficitem těchto vitamínů. (Oliai, et al., 2019) Systematický přehled a metaanalýza z roku 2018 zabývající se vztahem suplementace kyseliny listové, celkového stavu folátů a rizika kolorektálního karcinomu došly k nejednoznačným výsledkům. Autoři uvádí, že hlavními důvody těchto sporů mohou být rozdíly v biologické dostupnosti a metabolismu syntetické kyseliny listové a přirozeného folátu z potravy, stejně jako individuální odlišnosti subjektů a různé metody hodnocení stavu folátu. Vzhledem k tomu, že příznivé účinky dlouhodobé suplementace kyseliny listové nejsou potvrzeny, výsledky studie zdůrazňují důležitost individualizace příjmu doplňků stravy s kyselinou listovou. (Moazzen, et al., 2018)

Autoři systematického přehledu a metaanalýzy z roku 2021 došly k závěru, že zvýšený příjem kyseliny listové může pomoci předcházet rakovině slinivky břišní a močového měchýře. Nicméně uvádí, že vzhledem k dosavadním nekonzistentním výsledkům a možnosti, že by asociace mezi kyselinou listovou a karcinogenezí mohly být ovlivněny mnoha dosud neidentifikovanými faktory,

jsou opodstatněné další studie založené na nových biomarkerech, které by braly v úvahu účinek potenciálních rizikových faktorů a genetických polymorfismů. (Hongjuan, Jue & Chang, et al., 2021; Yi Gu, Jie Zeng & Yixin Zou, et al., 2021)

Studie z roku 2019 se zaměřila na souvislost příjmu kyseliny listové matkou s rizikem rakoviny u dětí. Bylo zjištěno, že suplementace kyseliny listové u matky má ochranný účinek proti dětské akutní lymfoblastické leukémii. Doporučuje se tedy pravidelně informovat veřejnost o výhodách suplementace kyselinou listovou během těhotenství. (Wan, Abdul, Rahman, Atil & Nawi, 2019)

Závěrem lze konstatovat, že vztah mezi kyselinou listovou a rizikem nádorových onemocnění zůstává nejednoznačný, protože studie ukazují jak pozitivní, tak negativní i neutrální souvislosti. Z těchto důvodů nemohou být formulována žádná konkrétní preventivní doporučení. (Pieroth, Paver, Day & Lammersfeld, 2018)

7.5. Vliv kyseliny listové na kognitivní funkce

Kyselina listová je nutná k udržení nízké hladiny homocysteinu v centrálním nervovém systému. Hyperhomocysteinémie je spojována se zvýšeným rizikem psychiatrických a neurodegenerativních onemocnění, jakými jsou např. deprese, schizofrenie, Alzheimerova a Parkinsonova choroba. Podle provedených studií může být neurotoxita homocysteinu způsobena inhibicí methyltransferáz účastnících se methylace katecholaminů metabolitem S-adenosylhomocysteinem, nebo prostřednictvím oxidačního stresu, který je výsledkem produkce reaktivních forem kyslíku vznikajících oxidací homocysteinu, nebo také prostřednictvím zvýšené excitotoxicity vedoucí k buněčné smrti pomocí produktů oxidace. Kyselina listová se může také přímo podílet na regulaci metabolismu neurotransmiterů, které ovlivňují činnost mozku, náladu, přenášejí nervové vzruchy a jejich dysbalance může vést např. k psychosomatickým poruchám, až k závažným neurologickým a psychiatrickým onemocněním. (Combs, 2012; Stránský, 2011)

Bylo zjištěno, že poškození kognitivních funkcí koreluje s plazmatickou hladinou homocysteinu, ale ne s biomarkery stavu kyseliny listové a/nebo vitamínu B12, což vyvolalo otázky o klinickém významu těchto vitaminů. Klinické studie zabývající se léčbou kyselinou listovou mají nejednoznačné výsledky. Systematický přehled čtyř randomizovaných, kontrolovaných studií dospěl k závěru, že kyselina listová nepřinesla žádné příznivé účinky na zlepšení kognitivních funkcí nebo nálady u starších zdravých žen. Spekuluje se, že nízká hladina folátu (a zvýšený homocystein) v krvi jsou spíše následkem než příčinou zhoršených kognitivních funkcí (Combs, 2012; Stránský, 2011)

Stále více důkazů naznačuje, že kyselina listová hraje důležitou roli v patogenezi Alzheimerovy choroby (AD z angl. Alzheimer's disease). AD je nejčastějším typem neurodegenerativního onemocnění CNS vedoucího k rozvoji syndromu demence u starších osob. V rozsáhlém systematickém přehledu a metaanalýze z roku 2021 byla zkoumána role nedostatku kyseliny listové v riziku AD a příznivého účinku jejího dostatečného příjmu na prevenci AD. Bylo zjištěno, že pacienti s AD měli nižší hladiny kyseliny listové než zdravé kontroly a že nedostatek kyseliny listové může zvýšit riziko AD. Studie ukázaly, že suplementace kyselinou listovou může zpomalit pokles kognitivních funkcí a atrofii mozku u pacientů s mírnou kognitivní poruchou a starších osob. Tato zjištění vedou k závěru, že dostatečný příjem kyseliny listové je prevencí proti AD. K ověření kauzality jsou ale ještě zapotřebí randomizované kontrolované studie dostatečného příjmu kyseliny listové nebo suplementace tohoto vitamínu v prevenci AD. (Zhang, Bao & Yang, et al., 2021)

Jiné studie naznačují, že je nedostatek kyseliny listové spojen se zvýšeným rizikem deprese, závažnějšími depresivními symptomy, delší dobou trvání epizod a zvýšeným rizikem relapsu

depresivních symptomů. Metaanalýza 43 studií z roku 2017, která zkoumala souvislost folátů a deprese, došla k závěru, že jednotlivci s depresí mají nižší sérové hladiny folátu a příjem folátu ve stravě než jedinci bez deprese. Autoři také uvedli, že budoucí výzkum suplementace folátem u deprese je opodstatněný a že kliničtí lékaři mohou chtít zvážit suplementaci folátem u pacientů s depresí. Ačkoliv je folát z červených krvinek (RBC) považován za nejpřesnější metodu při měření folátu, metaanalýza neprokázala signifikantní spojení RBC folátu s depresí. Depresivní porucha se nejčastěji léčí kombinací léků a psychoterapie. Pro pacienty, kteří nemají prospěch ze standardní terapie nebo preferují nefarmakologickou léčbu, může být suplementace kyselinou listovou další možností. Suplementace kyselinou listovou jako adjuvans k antidepressivní léčbě nebo monoterapii je účinná pouze v některých studiích. Tyto studie měly smíšené výsledky, ale opomněly vzít v úvahu genetické polymorfismy, jako jsou ty v methyltetrahydrofolát reduktáze (MTHFR), které ovlivňují metabolismus folátu. Suplementace L-methylfolátem namísto syntetické kyseliny listové (která potřebuje několik metabolických kroků, aby byla převedena na aktivní tetrahydrofolát) může tyto problémy metabolismu kyseliny listové překonat. Výzkum také prokázal souvislost mezi polymorfismy MTHFR a depresí. Je však zapotřebí dalšího výzkumu, aby se potvrdilo, že 5-MTHFR nebo kyselina listová je účinná u jedinců s depresí, kteří mají polymorfismus MTHFR. (Stengler, 2021)

Rozsáhlá norská studie, úkolem které bylo zhodnotit účinek perikoncepčního užívání kyseliny listové na riziko pozdějšího vývoje poruch autistického spektra (ASD - Autism Spectrum Disorders), se uskutečnila v letech 2002–2008. Studie byla zaměřena hlavně na těžkou formu ASD. I když její výsledek neprokázal jasnou příčinnou souvislost, podpořila doporučení suplementace kyseliny listové před otěhotněním a v prvních týdnech těhotenství, které jsou pro správný vývoj mozku nejdůležitější. (Doležálková & Unzeitig, 2014) K podobným výsledkům došli i autoři systematického přehledu a metaanalýzy z roku 2021, kteří tvrdí, že konzumace minimálního denního množství 400 µg kyseliny listové z doplňků stravy může být spojena se snížením rizika ASD u potomků. (Liu, Zou & Sun, et. al., 2021)

Studie publikovaná v roce 2021 se zaměřila na zhodnocení vlivu suplementace kyseliny listové během celého těhotenství (nejen na jeho počátku) na kognitivní výkon a mozkové funkce u dítěte. Došla k závěru, že pokračování v suplementaci kyseliny listové po časném období těhotenství, které se v současnosti doporučuje k prevenci NTD, může prospět neurokognitivnímu vývoji dítěte. (Caffrey, McNulty & Rollins, et al., 2021)

8. Deficit kyseliny listové

Při deficitu kyseliny listové dochází ke snížení koncentrace folátů v plazmě a erytrocytech a zároveň dochází ke zvyšování plazmatické hladiny homocysteinu. Koncentrace folátu v séru <7 nmol/l a <10 nmol/l jsou definovány jako subklinický nedostatek s rizikem zvýšeného homocysteinu v plazmě. Snížení koncentrace folátu v erytrocytech pod 340 nmol/l také značí subklinický nedostatek. (Referenční hodnoty)

8.1. Příčiny nedostatku

Tabulka 4: Faktory přispívající k nedostatku kyseliny listové (Zdroj: Combs, 2012)

Faktory přispívající k nedostatku kyseliny listové	nízký příjem stravou		
	malabsorpce	onemocnění střeva	celiakie, topická sprue
		onemocnění žaludku	atrofická gastritida
		vliv léků	sulfasalazin, aminosalicilová kyselina, supresiva žaludeční kyseliny
		genetické odchylky	vrozená malabsorpce folátu
	metabolické poruchy	získané	inhibitory dihydrofolát reduktázy (např. metotrexát), alkoholismus
		vrozené	polymorfismus MTHFR, nedostatek glutamát formiminotransferázy
	zvýšená potřeba	těhotenství, kojení, hemodialýza, nedonošenost	

Deficit kyseliny listové může být důsledkem sníženého příjmu v potravě. Nedostatečné pokrytí potřeby kyseliny listové se vyskytuje často při zvýšeném metabolismu, ke kterému dochází především ve stavu těhotenství a laktace. Významný vzestup metabolitů kyseliny listové v moči ve druhém trimestru těhotenství a návrat k výchozím hodnotám po porodu dokládají zvýšený katabolismus vitamínu v těhotenství. (Kasper, 2015) Zvýšené nároky metabolismu jsou také při nádorových onemocněních nebo při hypertyreoidismu.

Mimo to může k deficitu kyseliny listové dojít při určitých onemocněních trávicího traktu s poruchou absorpce (např. Crohnova choroba, resekce), při hojení a reparaci tkání (trauma, popálení, infekce), při užívání určitých léků (např. léčba antiepileptiky, chemoterapie, viz. kapitola 6.7.1.). Nedostatkem kyseliny listové často trpí chroničtí alkoholici a kuřáci, ale také senioři a sociálně slabší lidé, kteří se z různých důvodů stravují jednostranně a z hlediska výživy ne zcela optimálně. Vyšší potřeba kyseliny listové nastává také v případě chronického nedostatku železa. K deficitu kyseliny listové může docházet u všech věkových skupin. (Michalová, 2007; Blatná & Prugar, 2013)

Při totální parenterální výživě, zejména při infuzi roztoků aminokyselin, je nebezpečí tak výrazného snížení sérové koncentrace kyseliny listové, že by se mohla vyvinout megaloblastová anémie. Přesný mechanismus tohoto poklesu koncentrace kyseliny listové není znám. Je třeba pečovat o to, aby se při TPV infundovalo pokud možno více kyseliny listové, než odpovídá obvyklé denní potřebě. (Kasper, 2015)

8.2. Hlavní příznaky

Příznaky nedostatku kyseliny listové, která se účastní procesů buněčného dělení a diferencování se tak manifestují především v buněčných systémech s vysokým buněčným dělením (např. erythrocyty, leukocyty, buňky střevní sliznice a urogenitálního traktu) a také v těhotenství a růstových fázích plodu. Příznaky nedostatku se objevují postupně. Při dlouhodobě nízkém příjmu začíná klesat sérová koncentrace po 3-4 týdnech. Zhruba po 3 měsících je snížena koncentrace folátu v erythrocytech. V dalším průběhu dochází ke změnám krevního obrazu. Hlavním příznakem deficitu folátu je megaloblastová anémie se zvětšeným objemem erythrocytů. (Společnost pro výživu, 2019)

Protože kyselina listová hraje důležitou roli při dělení a diferenciaci buněk, může vést její nedostatek v raném stadiu těhotenství k defektům syntézy DNA, zpomalenému růstu buněk a omezené replikaci buněk s následnými defekty tvorby různých orgánů. Důsledkem jsou potraty, vrožené vady a poruchy vývoje. (Stránský, 2015)

Tabulka 5: Hlavní příznaky deficitu kyseliny listové (Zdroj: Combs, 2012)

Orgánový systém	Příznaky
celkový organismus	snížení chuti k jídlu, porucha růstu
kožní	alopecie, achromotrichie, dermatitida
svalový	slabost
gastrointestinální	zánět
vaskulární – erythrocyty	makrolytická anémie
nervový	deprese, neuropatie, paralýza

8.2.1. Megaloblastická anémie

Anémie neboli chudokrevnost, je syndrom, který může vzniknout z různých příčin. Anémie je definována sníženou koncentrací krevního barviva hemoglobinu pod 120 g/l u žen a pod 135 g/l u mužů. Často je spojená také sníženou koncentrací erythrocytů a hematokritu. Příčinami anémie mohou být: zvýšené ztráty erythrocytů (krvácení, hemolýza), poruchy krve tvorby – snížená tvorba erythrocytů (poruchy kmenové buňky, nedostatek erythropoetinu, nedostatek faktorů nutných pro erythropoézu jako bílkoviny a mikronutrienty – konkrétně železo, vitamin B12 a kyselina listová), anémie jako symptom chronických chorob, nebo zvýšení objemu plazmy. Podle velikosti erythrocytů se anémie klasifikuje jako mikrocytární (malé krvinky), normocytární (krvinky běžné velikosti) a makrocytární (velké krvinky). Podle koncentrace hemoglobinu v erythrocytech můžeme rozlišit anémii hypochromní (pod 300 g/l), normochromné (300-350 g/l) a hyperchromní (nad 350 g/l). (EUC, 2021; Kasper, 2015)

Jak již bylo zmíněno výše, tak deficit kyseliny listové může být jednou z příčin poruchy tvorby erythrocytů a rozvoje anémie. Nedostatek kyseliny listové (stejně jako vitaminu B12) vede k rozvoji makrocytární anémie, při které dochází k tvorbě menšího množství větších erythrocytů a tím dochází ke snížení transportní kapacity krve pro kyslík (příznaky jako slabost, závratě, dušnost). (Kasper, 2015)

Megaloblastická anémie je typem makrocytární anémie s přítomností velkých nezralých erythrocytů (megaloblastů) v kostní dřeni, ve které navíc dochází k určitým buněčným změnám. Mívá také jiné laboratorní nálezy – pokles počtu bílých krvinek a krevních destiček. Kyselina listová a vitamin B12 jsou nezbytnými kofaktory pro syntézu tymidinu. Nedostatečná saturace těmito vitamíny je příčinou megaloblastické erythropoézy v kostní dřeni, která vzniká v důsledku poruchy syntézy DNA. (Labin, 2016)

Megaloblastická anémie způsobená deficitem kyseliny listové se nedá hematologicky odlišit od megaloblastické anémie způsobené deficitem vitamínu B12, na což je třeba brát ohled při posuzování nálezů a při léčbě nedostatku kyseliny listové. Rozlišení mezi anémií z deficitu těchto dvou vitamínů se provádí pomocí sérových hladin těchto látek. Hladina kyseliny listové v séru je ovšem spíše ukazatelem jejího aktuálního stavu v plazmě, jelikož je ovlivněna jejím příjmem z potravy. Přesnějším ukazatelem je stanovení kyseliny listové přímo v erytrocytech, jelikož odráží její skutečnou koncentraci v buňce. Vitamin B12 je nezbytným kofaktorem pro transport kyseliny listové a její uchovávání erytrocytech. K prevenci megaloblastové anémie je nutný minimální příjem 50 µg kyseliny listové (100 µg DFE/den). (Společnost pro výživu, 2019)

8.2.2. Další příznaky

Kromě buněk kostní dřeně, postihuje deficit kyseliny listové také ostatní rychle se dělící buňky v organismu. Jde o epiteliální buňky gastrointestinálního, respiračního a urogenitálního traktu. Postižení gastrointestinálního traktu se projevuje např. glossitidou a trávicími potížemi, které následně negativně ovlivňují celkový nutriční stav nemocného. Může dojít k poruchám vstřebávání ve střevě a malabsorpci. U mužů může dojít k narušení spermatogeneze, což vede ke snížení plodnosti až neplodnosti. Deficit kyseliny listové vede ke snížení transportní kapacity krve pro kyslík, což se projevuje únavou, celkovou tělesnou slabostí, dechovou nedostatečností a palpitací. Příznakem mohou být také bolesti hlavy, podrážděnost a snížená schopnost koncentrace. U osob se světlou pletí bývá zřejmá bledost a slabě citronové zbarvení kůže. (Hrnčířová, 2017)

8.3. Hodnocení nutričního stavu

K určení saturace organismu kyselinou listovou se používá měření její koncentrace v séru a v plazmě nebo v erytrocytech, které jsou buněčnou zásobárnou folátů. V séru se kyselina listová vyskytuje převážně ve formě monoglutamátů, za fyziologických podmínek převážně jako 5-methyl-THF. V erytrocytech jako 5-methyl-THF polyglutamáty. Vzhledem k chemické nestabilitě a existenci různých forem folátů není jednoduché určit jejich koncentraci. Celkovou koncentraci folátů je možné určit původní mikrobiologickou anebo novou radioimunologickou metodou. Metoda hmotnostní spektrometrie nově umožňuje také diferenciaci různých sloučenin působících jako kyseliny listové. Tato metoda je teprve ve vývoji. (Společnost pro výživu, 2019)

Koncentrace folátů v séru udává hladinu folátů v krvi, ale nevypovídá nic o zásobě ve tkáních. Přes individuální a denní kolísání je to vhodný parametr k posouzení saturace organismu. (Společnost pro výživu, 2019)

Koncentrace folátů v erytrocytech je dobrým indikátorem pro stav zásobení během posledních 4 měsíců (životnost erytrocytu je průměrně 120 dnů). V erytrocytech se nachází 40krát vyšší koncentrace folátů (cca 450–1130 nmol/l) než v séru a nemění se až do jejich odbourání. (Společnost pro výživu, 2019)

Dalším parametrem, kterým lze posoudit saturaci folátem je koncentrace homocysteinu v plazmě. Při nedostatečném zásobení foláty dochází ke snížení remetylizace homocysteinu na metionin a tím stoupá jeho koncentrace v plazmě. Hladinu homocysteinu kromě folátu ovlivňují také vitaminy B12, B6 a v menší míře vitamin B2. I jejich nedostatek může vést ke zvýšení hladiny homocysteinu. Tím je homocystein citlivým, ale ne specifickým ukazatelem pro zásobení folátem. U dospělých je žádoucí hladina homocysteinu v plazmě <12 µmol/l. Základem pro cílové hodnoty koncentrace folátu v plazmě je ≥10 nmol/l a v erytrocytech ≥340 nmol/l. Při dosažení těchto hodnot je hladina homocysteinu <12 nmol/l. (Společnost pro výživu, 2019)

9. Důsledky nadbytku kyseliny listové

Účinky vysokého příjmu kyseliny listové nebo jiných syntetických folátů (např. calcium-L-metylfolátu) nebyly systematicky zkoumány. Při dlouhodobém denním příjmu 4 mg folátu nebyly zjištěny žádné vedlejší účinky. Při vyšších dávkách 5-10 mg kyseliny listové na den byly v ojedinělých případech zaznamenány gastrointestinální obtíže anebo poruchy spánku. U epileptiků se může zvýšit frekvence záchvatů. Takto vysoké dávky mohou být nebezpečné také osobám s onkologickým onemocněním, které je vázáno na hormony, tedy například karcinom prsu a prostaty. Proto se jako horní hranice pro dospělé udává maximální dávka na den 1000 µg. Užívání kyseliny listové se doporučuje konzultovat s lékařem. (Společnost pro výživu, 2019; Stránský, 2011; Blatná & Prugar, 2013)

Při jednorázovém příjmu kyseliny listové nad 260 µg se takové množství úplně nepřemění na 5-MTHF a nemetabolizovaná kyselina listová se z části vyskytne v séru. Dosud není jasné, zda to má nějaké negativní účinky na organismus. (Společnost pro výživu, 2019)

Vysoký příjem kyseliny listové může při současném nedostatku vitamínu B12 korigovat a maskovat symptomy megaloblastické anémie. Současně se vyskytující neurologické příznaky z deficitu vit. B12 ale zůstávají a může tak dojít k jejich zhoršení. Neléčená anémie v tomto případě může způsobit nenapravitelné poškození nervů až demenci. Diagnóza by se tedy neměla stanovovat pouze na základě anémie, ale je třeba provést krevní testy a před zahájením léčby vyloučit deficit vitamínu B12. Při zvýšeném příjmu folátů z potravy nebyly pozorovány žádné nežádoucí účinky. (Společnost pro výživu, 2019)

PRAKTICKÁ ČÁST

10. Cíl práce

Cílem diplomové práce bylo zjistit obsah metabolitu 5-MTHF v moči těhotných žen v průběhu těhotenství provedením laboratorní analýzy vzorků moči a zhodnotit, zda jsou dostatečně saturovány a jak se hodnoty tohoto metabolitu v moči na začátku a ke konci těhotenství liší. Dalším cílem bylo prostřednictvím dotazníkového šetření zjistit, zda jsou těhotné ženy dostatečně informovány o významnosti užívání kyseliny listové v období těhotenství, zda tento vitamin užívají a zda upravily své stravovací návyky ve prospěch zvýšeného příjmu tohoto vitaminu.

11. Metodika práce

Sledovaný soubor

Pro hodnocení úrovně saturace organismu ženy foláty v průběhu těhotenství bylo do studie zařazeno celkem 35 žen. Nábor respondentek byl uskutečněn v gynekologické ordinaci, ženy byly informovány o zaměření studie a významu suplementace kyselinou listovou v průběhu těhotenství. Studie byla schválena Etickou komisí. Při první návštěvě ordinace byl ženě předán dotazník (viz. Příloha). Dotazníky byly vyhodnoceny a výsledky z nich zpracovány do grafické podoby v programu Microsoft Excel. Vzorky ranní moči byly odebrány každé respondentce v prvním, druhém a třetím trimestru vždy při kontrole v gynekologické ambulanci. Vzorky moči byly uchovány v mrazicím boxu na -80 °C až do laboratorní analýzy. Laboratorní analýza vzorků moči imunochemickou metodou ELISA byla provedena v laboratoři Ústavu hygieny a epidemiologie. Jako doplňující měření pro vyjádření hodnoty 5-MTHF v moči byla stanovena u každého vzorku koncentrace kreatininu biochemickou laboratoří Agel.

Metoda analýzy

Analýza metabolitu 5-MTHF (5- methyltetrahydrofolátu) byla provedena prostřednictvím nepřímé kompetitivní ELISA (Enzyme Linked Imuno Sorbent Assay) metody, kterou lze kvantitativně změřit množství 5-MTHF ve vzorku. Ke stanovení byla použita testovací sada Human 5-MTHF (5-Methyltetrahydrofolate) ELISA Kit od firmy MyBioSource, která má vysokou citlivost a specifitu pro detekci aktivního metabolitu kyseliny listové 5-MTHF v séru, plazmě, tkáňových homogenátech a dalších biologických tekutinách. V této práci byly touto metodou analyzovány vzorky moče. Měření bylo provedeno na multiscan readru EPOCH (BioTech). Výpočet koncentrace byl proveden podle instrukcí kitu na základě kalibrační křivky.

Použitý materiál, přístrojové vybavení, pomůcky

- Vzorky ranní moči,
- Přístroj BioTek Multiscan Reader EPOCH (čtečka mikrodestiček, vlnová délka: 450nm),
- inkubátor (37 °C),
- centrifuga,
- jedno a vícekanálové pipety + jednorázové špičky, čisté zkumavky a eppendorfky, destilovaná voda.

Použitý materiál: Human 5-MTHF (5-Methyltetrahydrofolate) ELISA Kit

- Mikrotitrační destička ELISA (8x12, tj. 96 jamek),
- lyofilizovaný Standard (2 vialky),
- Pufr pro ředění vzorků (20 ml),
- Biotinem značená protilátka (60 µl),
- Ředící pufr protilátky (10 ml),

- Konjugát HRP-Streptavidin (SABC, 120 µl),
- Ředící pufr konjugátu SABC (10 ml),
- TMB (Tetramethylbenzidin) Substrát (10 ml),
- Stop roztok (10 ml),
- Promývací pufr (30 ml),
- Těsnicí fólie na destičku.

Princip testu

Základem testu je reakce mezi antigenem a protilátkou. Jamky mikrotitrační destičky v soupravě obsahují ukotvený antigen. Volný 5-MTHF ve vzorku nebo kontrolním standardu soutěží s fixovaným množstvím 5-MTHF na destičce o vazebná místa na biotinem značené protilátce. Přebytek konjugátu a nenavázaný vzorek nebo standard se z destičky odstraní promýváním. Do každé jamky se přidá konjugát streptavidin-enzym HRP (křenová peroxidáza) a inkubuje se. Po 30 minutách inkubace při 37 °C se do každé jamky přidá substrát TMB, který reaguje s enzymem za vzniku modrého zbarvení. Enzymatická reakce enzym-substrát je ukončena přidáním roztoku kyseliny sírové (Stop roztok). Přidání Stop roztoku vede ke změně zbarvení z modré na žlutou. Změna barvy je měřena spektrofotometricky při vlnové délce 450 nm. Intenzita zbarvení (absorpce) je nepřímo úměrná koncentraci 5-MTHF ve vzorku. Koncentrace 5-MTHF ve vzorcích se pak určí výpočtem z kalibrační křivky dle instrukcí kitu 5-MTHF.

Příprava vzorků moči k měření

Vzorky moči respondentek označené číselnými kódy byly před vlastním stanovením zamrazené v hlubokomrazícím boxu na -80 °C. Pro analýzu byly těsně před začátkem rozmrazeny a zcentrifugovány. Pro vlastní měření nebyly vzorky ředěny vzhledem k předpokládané nízké koncentraci metabolitu v moči. Další postup je uveden v popisu procedury.

Příprava kalibrační křivky

Pro výpočet koncentrace 5-MTHF ve vzorcích moči byla provedena kalibrace se standardy 5-MTHF připravenými ředěním základního standardního roztoku. Ten byl připraven z lyofilizátu přidáním 1 ml ředícího roztoku k lyofilizovanému 5-MTHF standardu. Vzniklý základní standardní roztok měl koncentraci 10 ng/ml. Ředění standardů pro kalibrační křivku bylo provedeno ze základního standardního roztoku v několika krocích s výsledným ředěním: 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64.

Pracovní postup

Příprava vzorků a činidel

1. Nachystat mikrotitrační destičku a vzorky, které budeme testovat. Před začátkem testu ponechat všechna činidla a vzorky při pokojové teplotě po dobu 20 minut. Zmrazené vzorky moči nechat zcela rozmrazit, aby neobsahovaly žádné krystaly.



Obrázek 7: Vzorky moče

2. Příprava Promývacího pufru: Zředit 30 ml koncentrovaného promývacího pufru destilovanou vodou na 750 ml promývacího pufru.
3. Příprava Standardů:
 - 1) Dát 1 ml pufru pro ředění vzorků do jedné standardní zkumavky (označené jako zkumavka 0), nechat zkumavku 10 minut v pokojové teplotě a důkladně ji promíchat.
 - 2) Označit 7 eppendorfek jako 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 a blank (slepá kontrola). Do každé zkumavky napipetovat 0,3 ml pufru pro ředění vzorků. Přidat 0,3 ml výše uvedeného standardního roztoku (ze zkumavky 0) do první zkumavky a pořádně promíchat. Přenést 0,3 ml z první zkumavky do druhé a pořádně promíchat. Následně přenést 0,3 ml z druhé zkumavky do třetí, promíchat, a tak dále. Pufr pro ředění vzorků použít jako slepou kontrolu.
4. Příprava pracovního roztoku biotinem značené protilátky (Biotin-labeled Antibody Working Solution):
 - 1) Roztok připravit hodinu předem.
 - 2) Vypočítat požadovaný celkový objem pracovního roztoku: 0,05 ml/jamka x počet jamek.
 - 3) Zředit biotinem značenou protilátku ředícím pufrem protilátky v poměru 1:100 a důkladně promíchat (tj. přidat 1 μ l biotinem značené protilátky do 99 μ l ředícího pufru protilátky).
5. Příprava pracovního roztoku konjugátu HRP-Streptavidinu (SABC)
 - 1) Roztok připravit 30 minut předem.
 - 2) Vypočítat požadovaný celkový objem pracovního roztoku: 0,1 ml/jamka x počet jamek.
 - 3) Zředit SABC ředícím pufrem SABC v poměru 1:100 a důkladně promíchat (tj. přidat 1 μ l SABC do 99 μ l ředícího pufru SABC).
6. Vzorky moče centrifugovat 20 minut při 1000xg při 2-8 °C. Odebrat supernatant a ihned začít provedení testu.



Obrázek 8: Centrifuga

Procedura testu

Při ředění vzorků a činidel je třeba dbát na jejich rovnoměrné promíchání. Před přidáním TMB substrátu do jamek je nutno ekvilibrovat substrát po dobu 30 minut při 37 °C.

1. Novou destičku je nejprve nutné **2x promýt**. Poté do jamek nastavit standard, testovací vzorky, kontrolní (slepé) jamky a zaznamenat jejich polohu.
2. Nanesení vzorků a biotinem značené protilátky:
 - 50 µl standardu, blanku, nebo vzorku napipetovat do jamek. Blank se přidá se vzorkem/standardním ředícím roztokem.
 - Ihned poté přidat 50 µl roztoku biotinem značené protilátky do každé jamky.
 - Destičku poté zakrýt připravenou těsnicí fólií. Následně jemně na destičku poklepat, aby se zajistilo důkladné promíchání a dát inkubovat 45 minut při 37 °C.



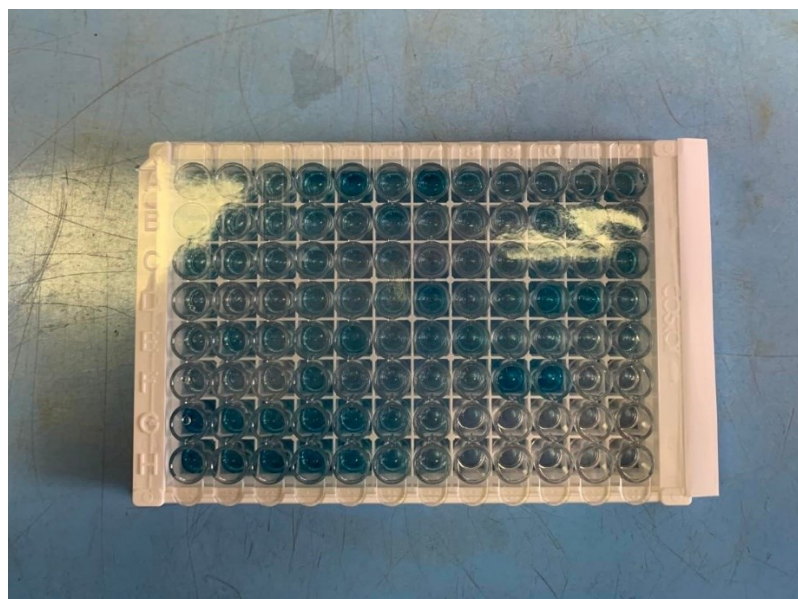
Obrázek 9: Pipetování vzorků do jamek ELISA destičky

3. Promytí: Sejmout fólii a destičku 3x promýt promývacím pufrem. Pufr nechat působit v jamkách vždy po dobu jedné minuty. Po posledním promytí odstranit veškerý zbývající pufr – vyklepnout destičku na savý materiál.
4. Konjugát HRP-Streptavidinu (SABC): Přidat 100 μ l SABC roztoku do každé jamky. Zakrýt novou těsnící fólií a inkubovat 30 minut při 37 °C.



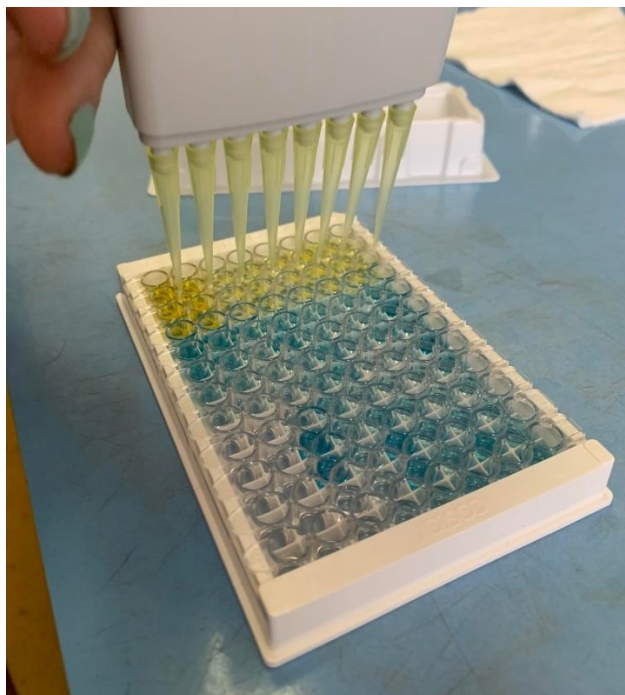
Obrázek 10: Inkubátor

5. Promytí: Sejmout fólii a destičku 5x promýt promývacím pufrem. Pufr nechat působit v jamkách vždy po dobu 1-2 minut.
6. TMB substrát: Přidat 90 μ l TMB substrátu do každé jamky, zakrýt destičku a inkubovat ve tmě při 37 °C po dobu 10-20 minut.



Obrázek 11: Přidání substrátu TMB, který reaguje s enzymem za vzniku modrého zbarvení

7. Stop roztok: Přidat 50 μ l stop roztoku do každé jamky. Barva se okamžitě změní na žlutou. Pořadí přidávání zastavovacího roztoku by mělo být stejné jako u roztoku substrátu TMB.



Obrázek 12: Pipetování Stop roztoku

8. Měření: odečíst absorbanci při 450 nm na přístroji multiscan reader EPOCH (BioTech) ihned po zastavení reakce.

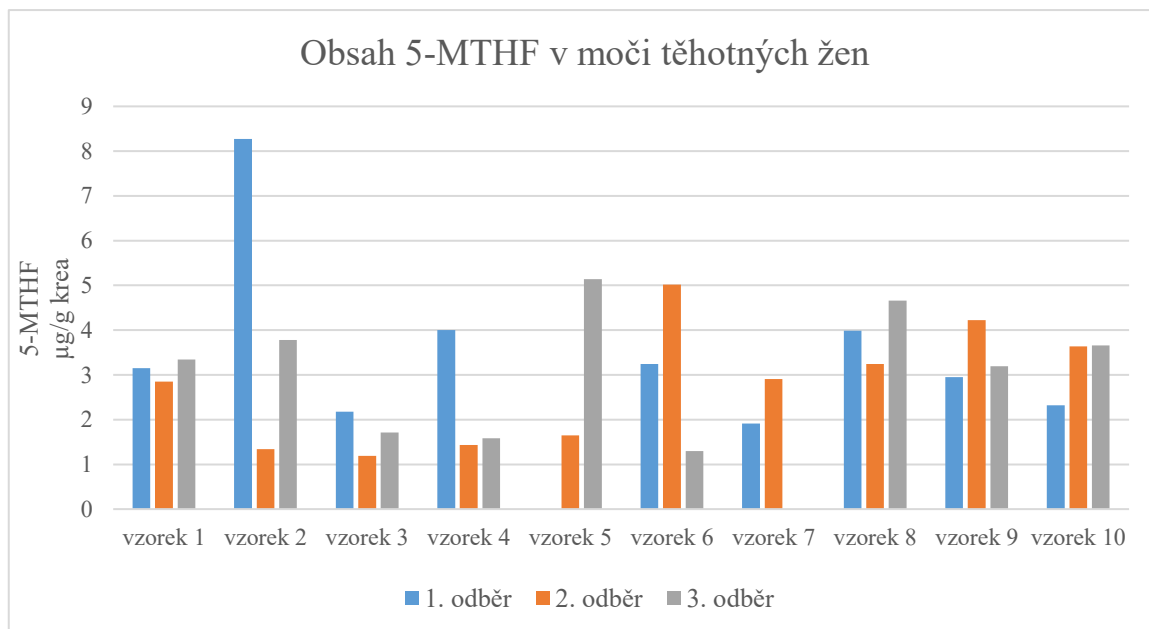


Obrázek 13: Multiscan reader EPOCH (BioTech)

12. Výsledky

12.1. Výsledky laboratorní analýzy

Moč na obsah 5-MTHF byla analyzována u souboru 10 těhotných celkem 3x v průběhu gravidity. Každý vzorek moči byl také vyšetřen na obsah kreatininu a výsledky koncentrace 5-MTHF v ng/ml moči byly přepočteny a jsou vyjádřeny na gram kreatininu. Výsledky jsou uvedeny v grafu 1.



Graf 1: Výsledky analýzy obsahu 5-MTHF v moči (µg/g krea) ze 3 odebraných vzorků v průběhu těhotenství (v 1., 2. a 3. trimestru)

V prvním odběru vzorku 1 bylo naměřeno 3,15 µg/g krea 5-MTHF, ve druhém odběru byla naměřená hodnota 5-MTHF o něco nižší (2,85 µg/g krea), a výsledná hodnota třetího odběru 3,34 µg/g krea, což značí mírný vzestup obsahu 5-MTHF oproti prvnímu odběru.

U druhého vzorku byla naměřena výrazně zvýšená hodnota 5-MTHF hned v prvním odběru, a to 8,27 µg/g krea. Druhý odběr obsahoval pouze 1,34 µg/g krea a třetí 3,78 µg/g krea, což je hodnota asi o 45 % nižší než u prvního odběru.

Obsah 5-MTHF u třetího vzorku byl ve všech třech odběrech poměrně nízký. V prvním odběru bylo naměřeno 2,18 µg/g krea, ve druhém 1,19 µg/g krea a ve třetím 1,71 µg/g krea. V porovnání prvního a posledního odběru došlo u tohoto vzorku ke snížení hladiny 5-MTHF.

Vzorek 4 obsahoval v prvním odběru nejvyšší hodnotu ze všech tří odběrů, a to 4 µg/g. Ve druhém odběru obsah 5-MTHF klesl na 1,43 µg/g krea a ve třetím na 1,58 µg/g krea.

U vzorku 5 bohužel nebyl k dispozici 1. odběr. Při porovnání druhého (1,65 µg/g krea) a třetího odběru (5,14 µg/g krea) vidíme výrazné zvýšení obsahu 5-MTHF v posledním odběru.

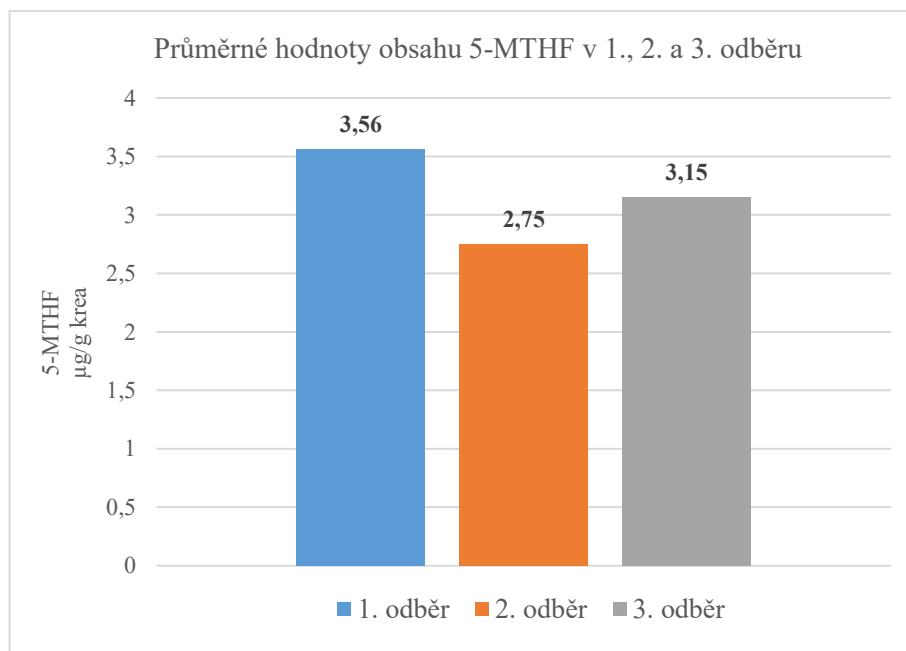
Vzorek 6 má nejvyšší naměřenou hodnotu ve 2. druhém odběru, a sice 5,02 µg/g krea. V prvním odběru bylo naměřeno 3,24 µg/g krea a v posledním odběru byla naměřena nejnižší hodnota 1,3 µg/g krea.

U vzorku 7 bohužel nebyl k dispozici poslední odběr. Můžeme vidět pouze nárůst obsahu 5-MTHF ve druhém odběru (2,91 µg/g krea) oproti prvnímu (1,91 µg/g krea).

V prvním odběru vzorku 8 byla naměřena hodnota 3,99 µg/g krea, ve druhém 3,24 µg/g krea a ve třetím 4,66 µg/g krea. Pozorujeme tedy vzestup obsahu 5-MTHF u posledního odběru.

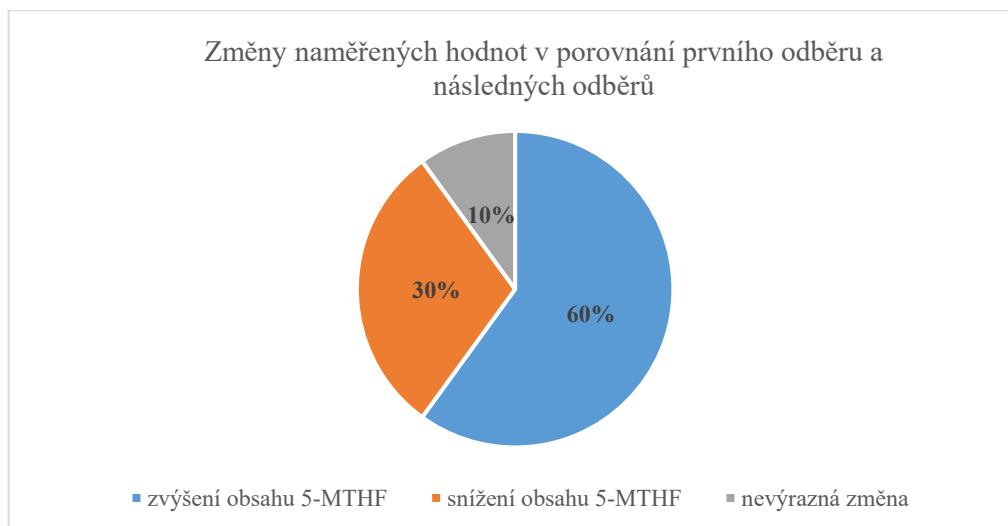
V prvním odběru vzorku 9 bylo naměřeno 2,95 $\mu\text{g/g}$ krea, ve druhém 4,22 $\mu\text{g/g}$ krea a ve třetím 3,19 $\mu\text{g/g}$ krea. Nejvyšší hodnota byla tedy naměřena u druhého odběru.

U vzorku 10 pozorujeme postupné zvyšování obsahu 5-MTHF v odběrech. V prvním odběru bylo naměřeno 2,32 $\mu\text{g/g}$ krea, ve druhém 3,64 $\mu\text{g/g}$ krea a ve třetím 3,66 $\mu\text{g/g}$ krea.



Graf 2: Srovnání průměrných hodnot 5-MTHF v 1., 2. a 3. odběru

Průměrná hodnota obsahu 5-MTHF všech 10 vzorků v 1. odběru byla 3,56 $\mu\text{g/g}$ krea, ve 2. odběru 2,75 $\mu\text{g/g}$ krea a ve 3. odběru 3,15 $\mu\text{g/g}$ krea.

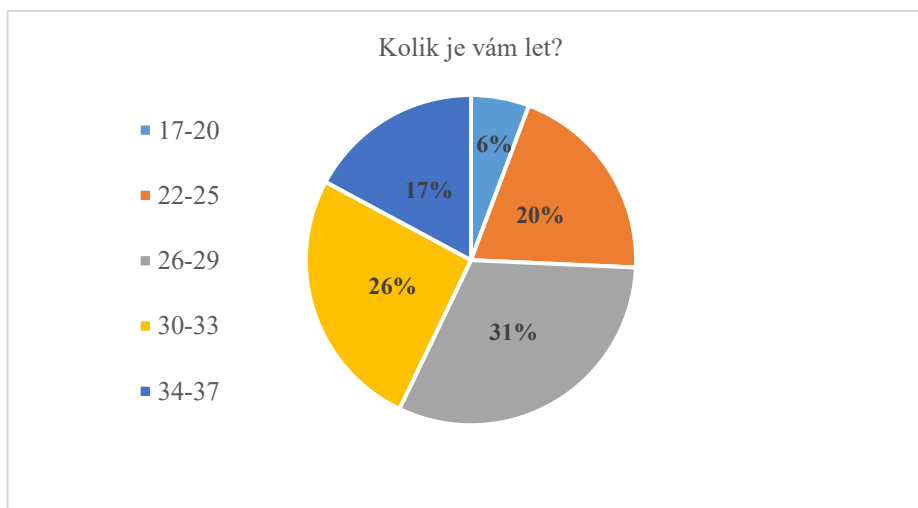


Graf 3: Procentuální zastoupení vzorků podle typu změny naměřených hodnot 5-MTHF v porovnání prvního odběru a následných odběrů

Graf 2 uvádí procentuální zastoupení vzorků podle typu změny naměřených hodnot 5-MTHF v porovnání prvního odběru a následných odběrů. Ke zvýšení obsahu 5-MTHF ve druhém nebo třetím odběru oproti prvnímu došlo u 6 vzorků z celkového počtu, což je 60 %. Naopak snížení obsahu 5-MTHF ve druhém nebo třetím odběru oproti prvnímu pozorujeme u 3 vzorků, což je 30 % z celkového počtu. U jednoho vzorku se naměřené hodnoty všech odběrů lišily jen nevýrazně (10 %).

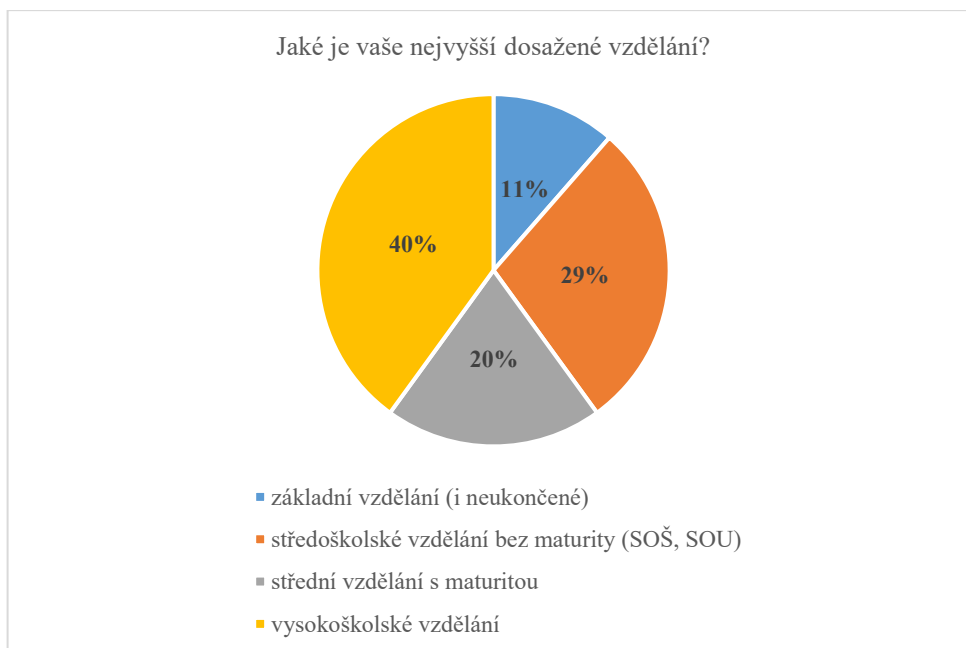
12.2. Výsledky dotazníkového šetření

Dotazníkového šetření se zúčastnilo celkem 35 těhotných žen.



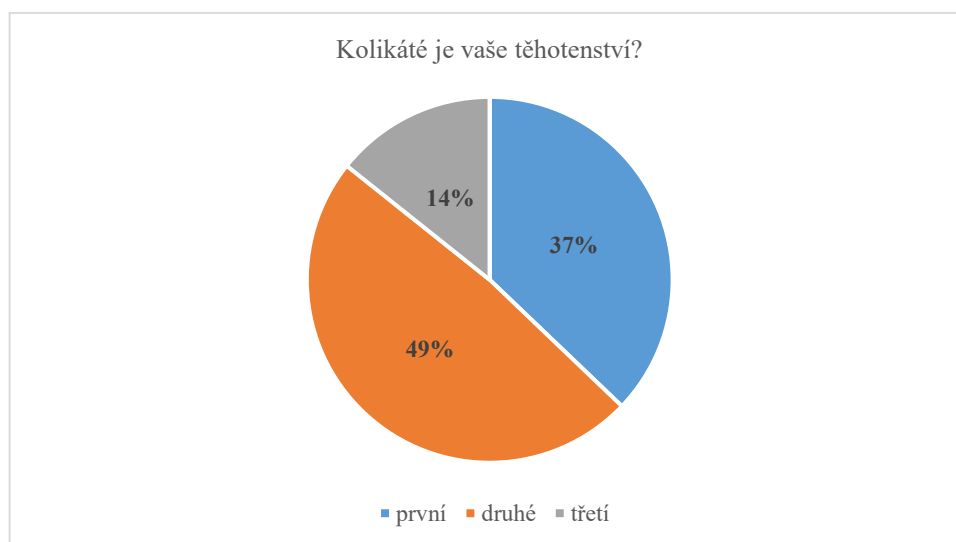
Graf 4: Rozložení věku respondentek

Průzkumu se zúčastnilo celkem 35 těhotných žen, z toho nejvíce bylo ve věku mezi 26–29 let, konkrétně 11, což je přes 30 %. Ve věku 30–33 let bylo 9 žen, což představuje okolo čtvrtiny celkového počtu. 20 % žen bylo ve věku 22–25 let, konkrétně 7, 17 % bylo ve věku 34–37 let a v nejmladší věkové kategorii 17–20 let se zúčastnily 2 ženy.



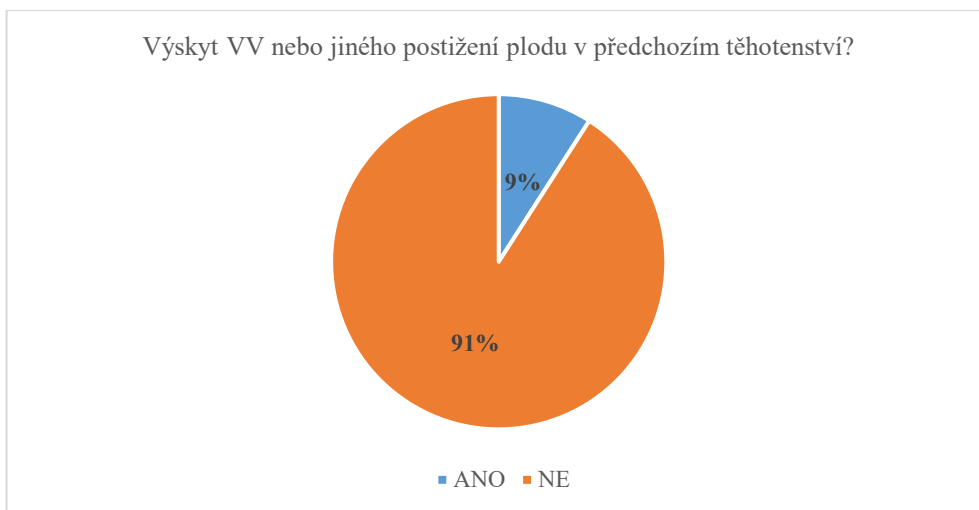
Graf 5: Nejvyšší dosažené vzdělání respondentek

Graf 4 rozděluje respondentky podle nejvyššího dosaženého vzdělání. Nejvyšší zastoupení tvořily vysokoškolsky vzdělané ženy, celkem jich bylo 14, což je 40 % z celkového počtu respondentek. Téměř 30 % žen uvedlo, že má středoškolské vzdělání bez maturity, konkrétně 10 a 7 žen uvedlo střední vzdělání s maturitou (20 %). Základní vzdělání uvedly 4 ženy, což je 11 % z celkového počtu.



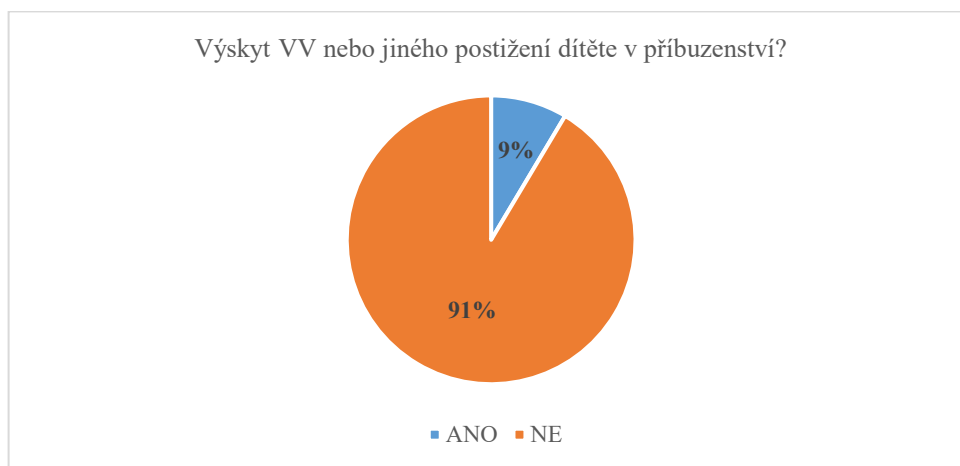
Graf 6: Počet těhotenství respondentek

Téměř polovina respondentek byla těhotná již podruhé, celkem 17 z celkového počtu. 37 % tvořily ženy prvorodičky, konkrétně 13 žen a 14 % žen čekalo dítě již potřetí, konkrétně 5 žen.



Graf 7: Výskyt vývojové vady nebo jiného postižení plodu v předchozím těhotenství

Graf 6 zjišťuje výskyt vývojové vady nebo jiného postižení plodu v předchozím těhotenství a jsou v něm uvedeny pouze odpovědi žen, které již byly vícekrát těhotné, celkem tedy 22 odpovědí z celkového počtu 35 respondentek. U většiny žen v předchozím těhotenství nedošlo k žádné vývojové vadě ani jinému postižení plodu, konkrétně u 20 žen, což je přes 90 % z celkového počtu odpovědí. Pouze 2 ženy (tj. 9 %) uvedly, že se v jejich předchozím těhotenství vyskytla vývojová vada plodu.



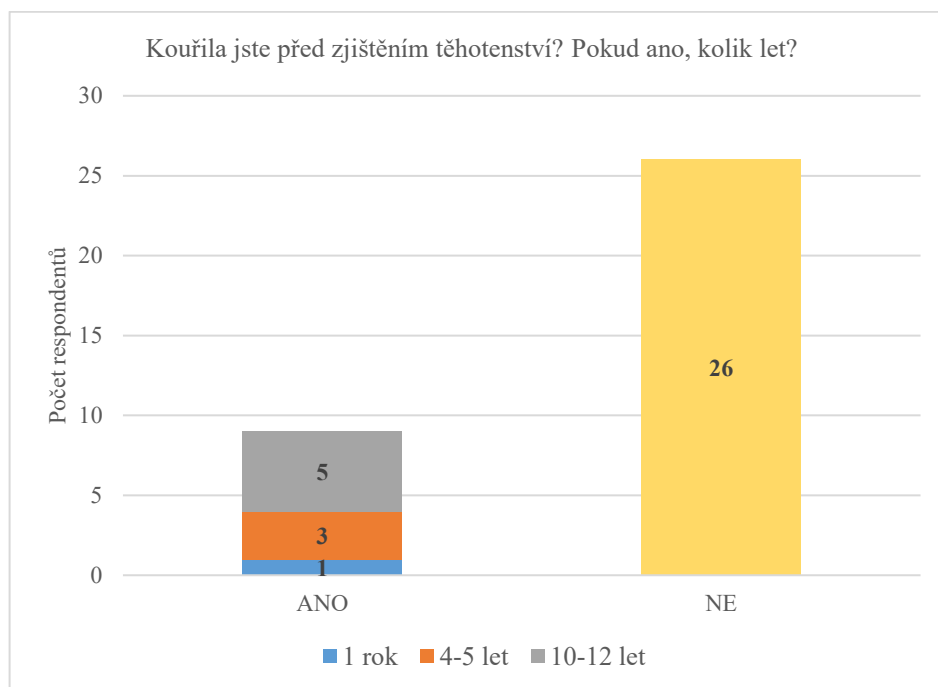
Graf 8: Výskyt vývojové vady nebo jiného postižení dítěte v příbuzenství

Graf 7 uvádí výskyt vývojové vady nebo jiného postižení dítěte v příbuzenství (sourozenci, sestřence atd.). 32 žen, což je přes 90 % z celkového počtu respondentek nezaznamenalo výskyt vývojové vady nebo jiného postižení dítěte v příbuzenství. Pouze 3 (9 %) ženy uvedly, že se v jejich příbuzenství vyskytl některý typ vývojové vady či jiného postižení dítěte.



Graf 9: Práce ženy v rizikovém, tj. zdraví škodlivém prostředí.

V grafu 8 jsou znázorněny odpovědi na otázku, zda žena pracuje nebo někdy pracovala v rizikovém, tj. zdraví škodlivém prostředí. Valná většina (94 %) žen uvedla, že v rizikovém prostředí nepracuje ani nepracovala a pouze 2 ženy, tedy 6 % z celkového počtu, uvedly, že v takovém prostředí pracovaly.



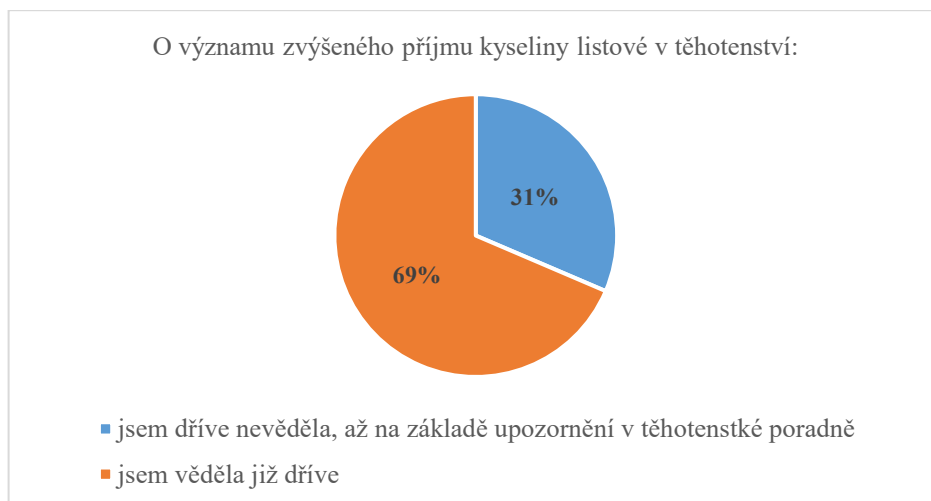
Graf 10: Návyk kouření před zjištěním těhotenství (jak dlouho)

V grafu 9 jsou uvedeny odpovědi respondentek ohledně otázky kouření před těhotenstvím. 74 % dotázaných žen (26 žen z celkového počtu) uvedlo, že před zjištěním těhotenství nekouřilo. 9 žen před svým těhotenstvím kouřilo, z toho 1 žena po dobu jednoho roku, 3 ženy po dobu 4-5 let a 5 žen kouřilo po nejdelší dobu z dotazovaných, 10-12 let.



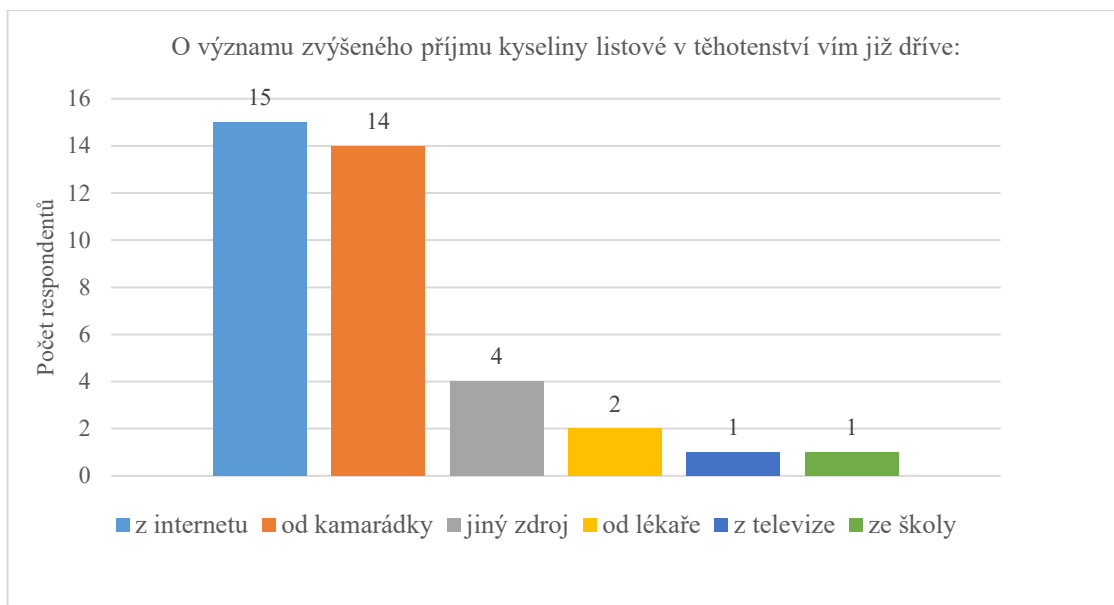
Graf 11: Návyk kouření v průběhu těhotenství

Graf 10 dělí respondentky dle toho, zda kouří v průběhu těhotenství nebo ne. Pouze 1 žena z 35 respondentek uvedla, že v těhotenství kouří.



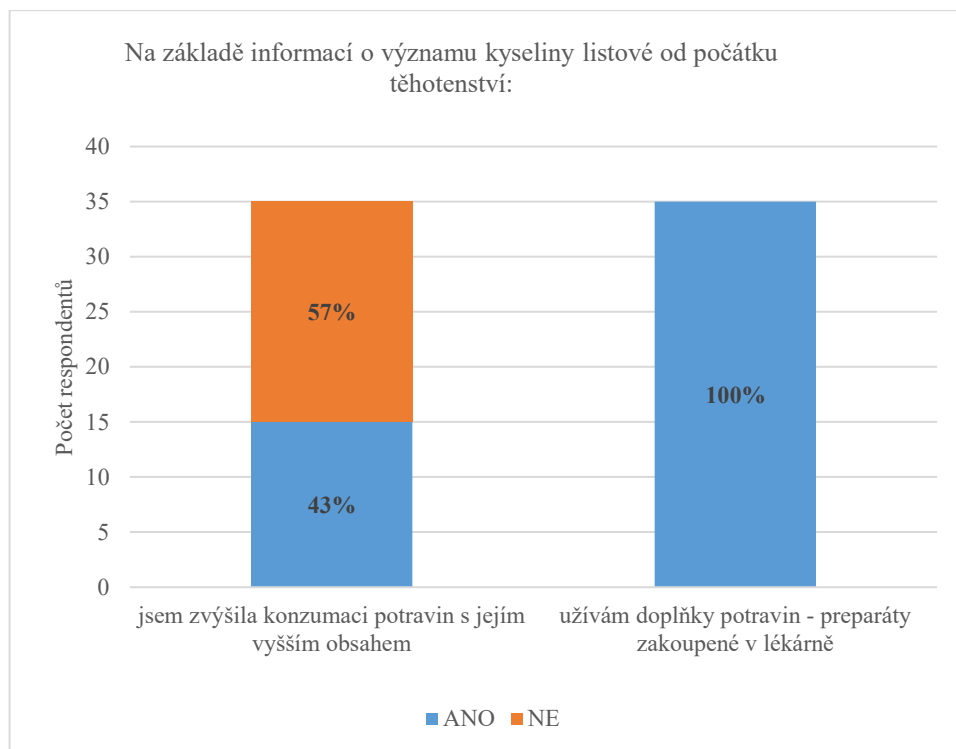
Graf 12: Povědomí respondentek o významu zvýšeného příjmu kyseliny listové v těhotenství a kdy se o tom dozvěděly

V grafu 11 jsou respondentky rozděleny podle toho, zda o významu zvýšeného příjmu kyseliny listové v těhotenství věděly již dříve, anebo se to dozvěděly až na základě upozornění v těhotenské poradně. Téměř 70 % (24) respondentek uvedlo, že o významu kyseliny listové již bylo informováno před navštívením těhotenské poradny. Okolo 30 % žen, konkrétně 11, se o tomto faktu dozvědělo až v poradně.



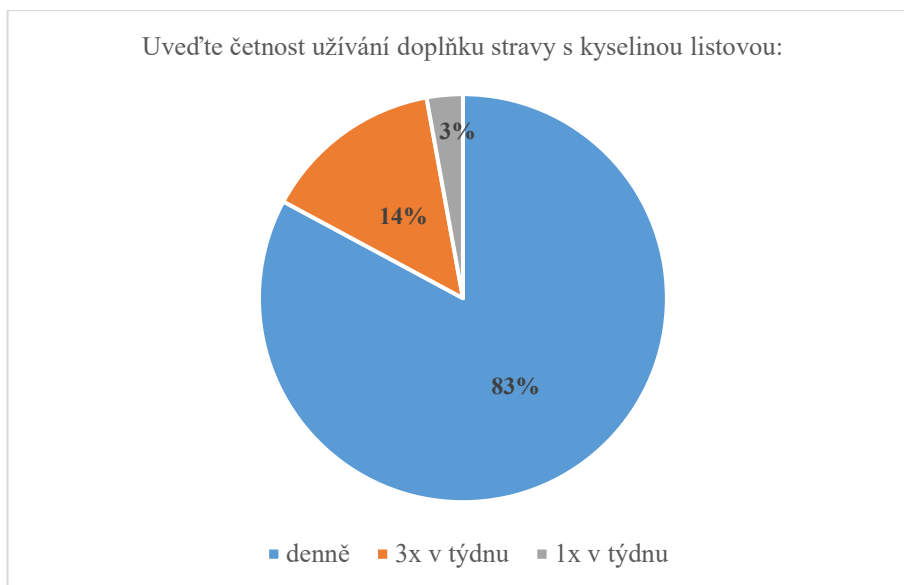
Graf 13: Uvedené zdroje informací o významu příjmu kyseliny listové v těhotenství podle respondentek, které se o něm dozvěděly již dříve

Graf 12 uvádí z jakého zdroje se respondentky o významu příjmu kyseliny listové v těhotenství dozvěděly. Odpovídaly pouze ženy, které na předchozí otázku odpověděly, že si významu příjmu kyseliny listové v těhotenství byly vědomy již před navštívením těhotenské poradny (tedy 24 žen). Bylo možno zvolit více odpovědí. Nejčastějšími zdroji informací o významu kyseliny listové byl internet (celkem 15 označení) a kamarádky (celkem 14 označení). Pouze 2 respondentky uvedly, že se o významu kyseliny listové dozvěděly od svého lékaře. Televizi a školu jako zdroj informací o kyselině listové označilo po jedné respondentce. 4 respondentky označily jiný zdroj informací, který nebyl uveden.



Graf 14: Užívání kyseliny listové ve formě doplňku stravy od počátku těhotenství a/nebo zvýšení konzumace potravin s jejím vyšším obsahem

V grafu 13 je zpracována otázka se dvěma variantami odpovědí. Respondentky měly uvést, zda na základě získaných informací o významu kyseliny listové, začaly od počátku těhotenství užívat doplňky stravy s obsahem kyseliny listové a/nebo zvýšily konzumaci potravin s jejím vyšším obsahem. Všechny 35 těhotných žen uvedlo, že užívá doplňky stravy s obsahem kyseliny listové od počátku těhotenství. Více než polovina žen, konkrétně 20, z celkového počtu ovšem uvedla, že konzumaci potravin s vyšším obsahem kyseliny listové nezvýšila. 15 žen (43 %) naopak uvedlo, že konzumaci těchto potravin navýšilo.



Graf 15: Četnost užívání doplňku stravy s kyselinou listovou

Graf 14 uvádí, jak často respondentky doplňky stravy s kyselinou listovou užívají. Většina žen, konkrétně 29, užívá tyto doplňky stravy každý den. 5 žen uvedlo, že je užívá 3x v týdnu a 1 žena uvedla, že je užívá pouze jednou týdně.

13. Diskuse

Do studie hodnocení úrovně saturace organismu ženy foláty v průběhu těhotenství bylo zařazeno celkem 35 žen, kterým byly vždy při kontrole v gynekologické ambulanci odebrány vzorky moči, a to v prvním, druhém a třetím trimestru. Celkem bylo analyzováno 28 vzorků moči od 10 respondentek. Cílem praktické části mé diplomové práce bylo provést laboratorní analýzu těchto vzorků a pomocí metody ELISA stanovit obsah metabolitu 5-MTHF. Výzkumný soubor pro analýzu moči obsahoval vzorky od 10 žen od zařazení ženy do studie v průběhu jejího těhotenství až po závěrečnou kontrolu ženy před porodem. Studie je dlouhodobá a její trvání je 9 měsíců. Spolupráce respondentek předpokládala doručení všech tří vzorků, což se ne ve všech případech podařilo. Některé ženy vzorek nedodaly, případně se odstěhovaly a změnily gynekologickou ambulanci, tudíž neodevzdaly potřebné vzorky. Toto jsme zaznamenali ve dvou případech.

Analýzou jsme úspěšně naměřily obsah 5-MTHF ve všech vzorcích moči těhotných žen. Zjištěné hodnoty byly různorodé. Průměrná hodnota obsahu 5-MTHF všech 10 vzorků v 1. odběru byla 3,56 $\mu\text{g/g}$ krea, ve 2. odběru 2,75 $\mu\text{g/g}$ krea a ve 3. odběru 3,15 $\mu\text{g/g}$ krea. Výsledkem měření dále bylo, že ke zvýšení obsahu 5-MTHF ve druhém nebo třetím odběru oproti prvnímu došlo u 60 % vzorků, konkrétně u šesti z celkového počtu. Naopak snížení obsahu 5-MTHF ve druhém nebo třetím odběru oproti prvnímu pozorujeme u 3 vzorků, což je 30 % z celkového počtu. U jednoho vzorku se naměřené hodnoty všech odběrů lišily jen nevýrazně. Jednotlivé výsledky měření bohužel nemůžeme porovnat s referenčními hodnotami, protože tyto hodnoty pro obsah 5-MTHF v moči nejsou stanoveny.

K určení saturace kyselinou listovou se v praxi používá především měření její koncentrace v krevním séru/plazmě nebo v erytrocytech. Základem pro cílové hodnoty koncentrace kyseliny listové v plazmě je ≥ 10 nmol/l a v erytrocytech ≥ 340 nmol/l. (Společnost pro výživu, 2019)

Měření folátů v moči se běžně nepoužívá. Celková exkrece folátů do moči je malá, obvykle do 1 % z celkových zásob organismu za den. Pro výzkumné účely se někdy stanovuje 24hodinové vylučování folátů močí. To může v kombinaci se stanovením sérových hladin nebo hladin v erytrocytech poskytnout jedinečné informace o stavu a metabolismu kyseliny listové. Toto měření zachycuje vzestupy a poklesy cirkulujících koncentrací folátů v reakci na příjem stravy a hladovění, a proto může být považováno za indikátor průměrného příjmu a stavu folátů během období sběru moči. Exkrece folátů močí ovšem vykazuje velký stupeň individuální variability, a právě kvůli této variabilitě není stav folátů v moči příliš citlivým ukazatelem pro saturaci organismu foláty. Dále je možno stanovit také 24hodinové vylučování katabolitů folátů močí, konkrétně p-acetamidobenzoylglutamátu a p-aminobenzoylglutamátu. (Bailey, et. al., 2015; Combs, 2012)

Kasper (2015) uvádí, že významný vzestup metabolitů kyseliny listové v moči ve druhém trimestru těhotenství a návrat k výchozím hodnotám po porodu dokládají zvýšený katabolismus tohoto vitamínu v těhotenství. Higgins a spol. (2000), který své studii měřil vylučování katabolitů folátů močí za 24 hodin, došel k závěru, že rychlost katabolismu kyseliny listové se během těhotenství progresivně zvyšuje a dosahuje vrcholu ve třetím trimestru v době maximálního růstu plodu. Zdá se, že zvýšená potřeba kyseliny listové během těhotenství je způsobena zrychleným rozkladem vitamínu kvůli jeho účasti na buněčné biosyntéze.

Podle těchto zjištění se dá teoreticky předpokládat vyšší obsah 5-MTHF v moči u těhotných, než netěhotných žen. V původním plánu provedení této práce bylo také odebrat a zanalyzovat vzorky žen, které nejsou těhotné a následně výsledné hodnoty porovnat mezi sebou. Bohužel kvůli nastalé nepříznivé situaci s pandemií covid-19 se nepodařilo tyto další testy v termínu uskutečnit. Toto může být námětem pro další výzkum.

Dotazníkového šetření se zúčastnily všechny ženy zařazené do experimentu. K vyhodnocení jsem tedy měla 35 dotazníků, což není mnoho k získání významných výsledků, nicméně tyto dotazníky byly součástí studie hodnocení úrovně saturace organismu ženy foláty v průběhu těhotenství s analýzou 5-MTH v moči a jejich hlavním cílem bylo zjistit potřebné informace o zúčastněných ženách, především zda užívají doplňky stravy s obsahem kyseliny listové a jejich stravovací návyky.

Výzkumu se zúčastnilo nejvíce žen ve věkové kategorii 26-29 let. Nejvyšší zastoupení tvořily vysokoškolsky vzdělané ženy, celkem jich bylo 40 %. Co se týče počtu těhotenství, tak téměř polovina žen byla těhotná již podruhé a 37 % tvořily ženy prvorodičky. Nejméně žen čekalo dítě již potřetí. U většiny žen v předchozím těhotenství nedošlo k žádné vývojové vadě ani jinému postižení plodu a také se u většiny žen nevyskytla žádná vývojová vada v přibuzenství. 2 ženy uvedly, že se v jejich předchozím těhotenství vyskytla vývojová vada plodu a 3 ženy vyskyt v přibuzenství.

V rizikovém prostředí pracovaly pouze 2 ženy z celkového počtu. 74 % dotázaných žen uvedlo, že před zjištěním těhotenství nekouřilo. 9 žen před svým těhotenstvím kouřilo, z toho 5 žen kouřilo po nejdelší dobu z dotazovaných, 10-12 let. Pouze 1 žena uvedla, že kouří i v těhotenství. Kouření patří mezi hlavní rizikové faktory teratogeneze. Přispívá ke snížení plazmatické hladiny folátů i jejich koncentrace v erytrocytech. U kuřáků bývají hladiny folátů v plazmě nižší o více než 40 % oproti nekuřákům. (Combs, 2012)

Co se týče povědomí o významu zvýšeného příjmu kyseliny listové v těhotenství, tak téměř 70 % respondentek uvedlo, že o významu kyseliny listové již bylo informováno před navštívením těhotenské poradny. Zbytek respondentek se o tomto faktu dozvědělo až v poradně v průběhu těhotenství. Nejčastějšími zdroji informací o významu kyseliny listové byl internet a rady od kamarádek. Pouze 2 respondentky uvedly, že se o významu kyseliny listové dozvěděly od svého lékaře. Televizi a školu jako zdroj informací o kyselině listové označilo pouze po jedné respondentce. To, že pouze 2 ženy byly o důležitosti kyseliny listové informovány už před početím od svého lékaře není kladné zjištění. Jelikož je včasná suplementace (tzn. už alespoň měsíc před početím) kyseliny listové velmi důležitá pro prevenci vrozených vývojových vad plodu a některých těhotenských komplikací, je podstatné zohlednit nutnost edukace všech žen co nejvíce efektivními způsoby. Je třeba zdůraznit, že v tomto případě nejde o užívání neověřených a neúčinných preparátů, které jsou akorát marketingovým tahem jejich výrobců. V dnešní době je velmi náročné se orientovat v nepřeberném množství doplňků stravy, které slibují zázraky. Preventivní účinek kyseliny listové je však znám již mnoho let a byl potvrzen mnoha rozsáhlými studiemi. Suplementace kyseliny listové předchází závažným vrozeným vývojovým vadám, v mnoha případech se životem neslučitelných, nebo s následným postižením na celý život, které bude velkým traumatem pro rodičku a její rodinu, a mimo jiné bude vyžadovat vysoké náklady společnosti na jejich léčení. Bylo by vhodné se více zaměřit na podporu primární prevence ohledně užívání kyseliny listové, a to nejlépe u všech fertálních žen, nejen těch, co těhotenství plánují. Praktičtí lékaři a gynekologové by měli hrát v informování žen významnou roli. V čekárnách a také lékárnách by mohly být k dispozici vhodné informační letáky. Co se týče obohacování potravin kyselinou listovou, tak na rozdíl od některých jiných zemí světa, Česká republika doposud nezavedla povinnou fortifikaci potravin kyselinou listovou, a tak její příjem z přirozených zdrojů nedosahuje v běžné populaci doporučených hodnot. Mohlo by tedy být na místě zvážit její zavedení.

Všech 35 těhotných žen uvedlo, že užívá doplňky stravy s obsahem kyseliny listové od počátku těhotenství. Většina žen užívá tyto doplňky stravy každý den. Pouze 1 žena uvedla, že je užívá pouze jednou týdně. Více než polovina žen z celkového počtu ovšem uvedla, že nezvýšila konzumaci potravin s vyšším obsahem kyseliny listové. Konzumaci těchto potravin navýšilo pouze 43 % žen. Zjištění, že všechny dotázané ženy suplementují kyselinou listovou je velmi pozitivní a vypovídá to o

dobré informovanosti. Jelikož ke vzniku NTD dochází hned v počátku fetálního vývoje, kdy probíhá proces vytváření neurální trubice, je doporučeno užívat kyselinu listovou prekoncepčně v rámci plánování početí. Vývoj neurální trubice bývá dokončen do 28. dne těhotenství, tedy obvykle ještě před jeho zjištěním. Podle aktuálních doporučení DACH by ženy, které by mohly otěhotnět nebo těhotenství plánují, měly užívat 400 µg kyseliny listové ve formě doplňku stravy denně, a to minimálně měsíc před otěhotněním a pokračovat až do konce 3. měsíce těhotenství.

Hlavním přínosem dotazníkového šetření bylo zjištění, že všechny ženy zařazené do studie užívaly od počátku těhotenství doplňky stravy s obsahem kyseliny listové, z toho většina je užívala každý den. Dá se tedy předpokládat, že jejich celkový příjem kyseliny listové mohl být dostatečný pro naplnění potřeb organismu a prevenci vrozených vývojových vad plodu, a to především u žen, které taktéž navýšily konzumaci potravin s jejím vyšším obsahem. Toto je ovšem možné jen při plánovaném těhotenství. Většinou žena zjistí, že je těhotná například až ve druhém měsíci těhotenství, kdy si udělá těhotenský test, nebo přijde na prohlídku ke gynekologovi.

14. Závěr

Praktická část této práce byla zaměřena na sledování saturace těhotných žen vitaminem, který hraje v lidském organismu zásadní roli a obzvláště velký význam má právě v těhotenství. Kyselina listová je nepostradatelná pro vývoj a růst plodu, vývoj nervové soustavy a její dostatečný příjem je prevencí vzniku závažných vrozených vývojových vad, jako jsou defekty neurální trubice a jiné, předčasného porodu, potratu a dalších těhotenských patologií. Postižení plodu může být tak závažné, že je v mnoha případech doporučeno těhotenství ukončit a pokud je slučitelné se životem, znamená trvalé postižení jedince, které se stává velkým traumatem a zátěží nejen pro matku a její rodinu, ale především pro samotného jedince, který se s případným handicapem potýká celoživotně. Zvýšenou potřebu tohoto vitaminu v období těhotenství není snadné naplnit běžnou stravou. Je tedy doporučeno užívat kyselinu listovou ve formě doplňků stravy (v dávce 400-600 µg/den) v průběhu těhotenství a alespoň měsíc před plánovaným početím. Z těchto důvodů je nezbytné zaměřit se na podporu primární prevence ohledně užívání kyseliny listové, a to nejlépe u všech fertálních žen, nejen u těch, které těhotenství plánují, nebo už těhotné jsou.

V naší studii jsme analýzou vzorků moči těhotných žen zjistili ve všech vzorcích měřitelné koncentrace metabolitu kyseliny listové 5-MTHF, což svědčí o saturaci organismu. Průměrná hodnota obsahu 5-MTHF všech vzorků v 1. odběru byla 3,56 µg/g krea, ve 2. odběru 2,75 µg/g krea a ve 3. odběru 3,15 µg/g krea. Dále jsme zjistili, že u 60 % vzorků došlo ke zvýšení obsahu 5-MTHF ve druhém nebo třetím trimestru oproti prvnímu. U 30 % vzorků došlo naopak ke snížení obsahu 5-MTHF v pozdějších fázích těhotenství. U 10 % vzorků se naměřené hodnoty všech odběrů lišily jen nevýrazně. Dotazníkové šetření ukázalo důležité zjištění, a to že všechny ženy zařazené do výzkumu o významu kyseliny listové věděly a doplňky stravy s jejím obsahem užívaly a téměř 70 % jich bylo o tomto významu informováno již před navštívením těhotenské poradny. Nicméně ani polovina tázaných žen nenavýšila konzumaci potravin s vyšším obsahem kyseliny listové. Ideální kombinací by bylo navýšení příjmu kyseliny listové z běžné stravy v kombinaci s užíváním doplňku stravy. Stát by mohl zvážit povinnou fortifikaci základních potravin kyselinou listovou, tak jako to funguje v některých jiných zemích.

Je nepopiratelné, že kyselina listová hraje v preventivní výživě důležitou roli. V teoretické části práce byly probrány také vlivy tohoto vitaminu na prevenci kardiovaskulárních a nádorových onemocnění, ovlivnění vývoje kognitivních funkcí a dalších. Výsledky studií naznačují protektivní vliv kyseliny listové pro tato onemocnění, ovšem dodnes jsou nejednotné a je třeba dalších výzkumů.

Seznam použité literatury

1. Bailey, S.W., Ayling, J.E. (2018). The pharmacokinetic advantage of 5-methyltetrahydrofolate for minimization of the risk for birth defects. *Scientific Reports* 8(4096). doi: [10.1038/s41598-018-22191-2](https://doi.org/10.1038/s41598-018-22191-2)
2. Bencko, V. a kol. (2002). *Epidemiologie, výukové texty pro studenty 1. LF UK*, Praha. Univerzita Karlova v Praze – Nakladatelství Karolinum.
3. Blatná, J. & Prugar, J. (2013). Ze světa vitamínů a minerálií: Kyselina listová. *dTest*, 5. Dostupné z: www.dtest.cz/clanek-2890/ze-sveta-vitaminu-a-mineralii-kyselina-listova
4. British Dietetic Association. (2019). Folic Acid: Food Fact Sheet. *Bda.uk.com* [online]. [cit. 2021-10-05]. Dostupné z: <https://www.bda.uk.com/resource/folic-acid.html>
5. Caffrey, A., McNulty, H., Rollins, M. et al. (2021). Effects of maternal folic acid supplementation during the second and third trimesters of pregnancy on neurocognitive development in the child: an 11-year follow-up from a randomised controlled trial. *BMC Med* 19(73). doi:10.1186/s12916-021-01914-9
6. Combs, G. F. (2012). *The Vitamins*. Amsterdam: Elsevier. doi:10.1016/C2009-0-63016-6
7. Delchier, N., Herbig, A., Rychlik, M. & Renard, C. (2016). Folates in Fruits and Vegetables: Contents, Processing, and Stability. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 15(3), 506-528. doi: [10.1111/1541-4337.12193](https://doi.org/10.1111/1541-4337.12193)
8. Doležalková E. & Unzeitig V. (2014). Kyselina listová a prevence rozštěpových vad centrálního nervového systému. *Česká Gynekologie*, 79(2), 134–139. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/ceska-gynekologie/2014-2-11/kyselina-listova-a-prevence-rozstepovych-vad-centralniho-nervoveho-systemu-48697>
9. Drugs.com. *Methotrexate Injection* [online]. [cit. 2021-10-27]. Dostupné z: <https://www.drugs.com/pro/methotrexate-injection.html>
10. Edukafarm. (2003). Hyperhomocysteinémie očima odborníků. *Edukafarm.cz* [online]. [cit. 2021-11-10]. Dostupné z: <http://www.edukafarm.cz/c127-hyperhomocysteinemie-ocima-odborniku>
11. Fait, T. (2014). Čtvrtá generace folátů a perikoncepční péče. *Gynekologie a porodnictví*, 18(4), 246-250. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/prakticka-gynekologie/2014-4-11/ctvrta-generace-folatu-a-perikoncepzni-pece-50989>
12. Field, M.S. & Stover, P.J. (2018). Safety of folic acid Martha S. and Patrick J. Stover *Annals of the New York Academy of sciences*, 1414(1), 59-71, doi: 10.1111/nyas.13499
13. Fórum zdravé výživy. *Fortifikace* [online]. [cit. 2021-09-20]. Dostupné z: <http://www.fzv.cz/fortifikace/>
14. Frisová, V. (2013). Vrozené rozštěpové vady neurální trubice plodu. *Šance dětem* [online]. [cit. 2021-10-20]. Dostupné z: <https://sancedetem.cz/vrozene-rozstepove-vady-neuralni-trubice-plodu>
15. Han, T. B., Guo, L. L., Yang, F. F., Zhao, F., Du, W. Q., Wang, Y., Shen, J. X., Feng, Y. L., Yang, H. L., Zhang, Y. W., Wu, W. W., & Wang, S. P. (2020). Zhonghua liu xing bing xue za zhi. *Zhonghua liuxingbingxue zazhi*, 41(11), 1894–1899. doi: [10.3760/cma.j.cn112338-20191218-00895](https://doi.org/10.3760/cma.j.cn112338-20191218-00895)
16. Han, T. B., Guo, L. L., Yang, F. F., Zhao, F., Du, W. Q., Wang, Y., Shen, J. X., Feng, Y. L., Yang, H. L., Zhang, Y. W., Wu, W. W., & Wang, S. P. (2020). Zhonghua liu xing bing xue za zhi = Zhonghua liuxingbingxue zazhi, 41(11), 1894–1899. <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn112338-20191218-00895>

17. Higgins, J. R., Quinlivan, E. P., McPartlin, J., Scott, J. M., Weir, D. G., & Darling, M. R. (2000). The relationship between increased folate catabolism and the increased requirement for folate in pregnancy. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology*, 107(9), 1149–1154. doi: [10.1111/j.1471-0528.2000.tb11115.x](https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2000.tb11115.x)
18. Hlúbík, P., & Opltová, L. (2004). *Vitaminy*. Praha: Grada.
19. Hoffbrand, A. V., & Weir, D. G. (2001). The history of folic acid. *British journal of haematology*, 113(3), 579–589. doi: 10.1046/j.1365-2141.2001.02822.x
20. Hongjuan Fu, Jie Zeng, Chang Liu, Yi Gu, Yixin Zou & Hui Chang. Digestive Diseases and Sciences. (2021). Folate Intake and Risk of Pancreatic Cancer: A Systematic Review and Updated Meta-Analysis of Epidemiological Studies. *Digestive Diseases and Sciences*, 66, 2368–2379. doi: [10.1007/s10620-020-06525-7](https://doi.org/10.1007/s10620-020-06525-7)
21. Hrnčířová, D. (2017). Kyselina listová – její význam, biodostupnost a potravinové zdroje. *Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa*, 20(3), 158–162. Dostupné z: <https://www.tigis.cz/casopisy/pro-lekare/diabetologie-metabolismus-endokrinologie-vyiva/itemlist/category/1005-dmev-3-2017>
22. Hronek, M. (2004). *Výživa ženy v obdobích těhotenství a kojení*. Praha: Maxdorf.
23. Hronek, M., Kovařík, M. (2012). Interakce vitaminů s léčivými. *Interní Medicína*, 14(6-7), 275–280. Dostupné z: [Interní Med.: Interakce vitaminů s léčivými \(internimedica.cz\)](http://www.internimedica.cz)
24. Hyánek, J. (2002). Diagnostický a terapeutický význam mírné hyperhomocysteinémie. *Zdraví.euro.cz* [online]. [cit. 2021-11-10]. Dostupné z: <https://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina/diagnosticky-a-terapeuticky-vyznam-mirne-hyperhomocysteinemie-148180>
25. Chrysant, S.G. & Chrysant, G.S. (2018). The current status of homocysteine as a risk factor for cardiovascular disease: a mini review. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 16(8), 559–565. doi: 10.1080/14779072.2018.1497974.
26. Kasper, H. (2015). *Výživa v medicíně a dietetika: překlad 11. vydání*. Praha: Grada.
27. Kaye AD, Jeha GM, Pham AD, Fuller MC, Lerner ZI, Sibley GT, Cornett EM, Urits I, Viswanath O & Kevil CG. (2020). Folic Acid Supplementation in Patients with Elevated Homocysteine Levels. *Adv Ther*. 37(10), 4149–4164. doi: 10.1007/s12325-020-01474-z
28. Koucký, M. (2011). Patologie kyseliny listové a těhotenství. *Praktické lékařství*, 7(4), 166–170. Dostupné z: https://www.solen.cz/artkey/lek-201104-0004_Patologie_kyseliny_listove_a_tehotenstvi.php
29. Labtestonline. (2011). Defekty neurální trubice. *Labtestonline.cz* [online]. [cit. 2021-10-20]. Dostupné z: <https://www.labtestonline.cz/defekty-neuralni-trubice.html>
30. Liu, X., Zou, M., Sun, C. et al. (2021). Prenatal Folic Acid Supplements and Offspring's Autism Spectrum Disorder: A Meta-analysis and Meta-regression. *J Autism Dev Disord* (2021). doi: [10.1007/s10803-021-04951-8](https://doi.org/10.1007/s10803-021-04951-8)
31. Michalová, I. (2007). *Průvodce spotřebitele, svazek č. 12 - Doplnky stravy (Potraviny k doplnění jídelníčku)*. Praha: Sdružení českých spotřebitelů, o. s. Dostupné z: [https://www.bezpecnostpotravin.cz/doplňky-stravy-\(potraviny-k-doplneni-jidelnicku\).aspx](https://www.bezpecnostpotravin.cz/doplňky-stravy-(potraviny-k-doplneni-jidelnicku).aspx)
32. Moazzen S, Dolatkah R, Tabrizi JS, Shaarbaifi J, Alizadeh BZ, de Bock GH & Dastgiri S. (2017). Folic acid intake and folate status and colorectal cancer risk: A systematic review and meta-analysis. *Clin Nutr*, 37, 1926–1934. doi: 10.1016/j.clnu.2017.10.010
33. National Institutes of Health. (2021). *Folate Fact Sheet for Health Professionals* [online]. [cit. 2021-11-05]. Dostupné z: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Folate-HealthProfessional/>

34. Nkemjika, S., Ifebi, E., Cowan, L.T. et al. (2020). Association between serum folate and cardiovascular deaths among adults with hypertension. *Eur J Clin Nutr* 74, 970–978. doi:[10.1038/s41430-019-0533-7](https://doi.org/10.1038/s41430-019-0533-7)
35. Oliai Araghi S, Kiefte-de Jong JC, van Dijk SC, Swart KMA, van Laarhoven HW, van Schoor NM, de Groot LCPGM, Lemmens V, Stricker BH, Uitterlinden AG & van der Velde N. (2018). Folic Acid and Vitamin B12 Supplementation and the Risk of Cancer: Long-term Follow-up of the B Vitamins for the Prevention of Osteoporotic Fractures (B-PROOF) Trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, 28(2), 275-282. doi: 10.1158/1055-9965
36. Rucker, R. B., Zempleni, J., Suttie, J. W. & McCormick, B. (2007). *Handbook of Vitamins*. CRC Press. doi:10.1201/9781420005806
37. Scaglione, F. & Panzavolta, G. (2014). Folate, folic acid and 5-methyltetrahydrofolate are not the same thing. *Xenobiotica*, 44(5), 480-488. doi: 10.3109/00498254.2013.845705
38. Schwingshackl, L., Boeing, H., Stelmach-Mardas, M., Gottschald, M., Dietrich, S., Hoffmann, G., & Chaimani, A. (2017). Dietary Supplements and Risk of Cause-Specific Death, Cardiovascular Disease, and Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis of Primary Prevention Trials. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*, 8(1), 27–39. doi: [10.3945/an.116.013516](https://doi.org/10.3945/an.116.013516)
39. Sobotka, L. (2003). Vitaminy. *Interní medicína pro praxi*, 5(2), 61-67. Dostupné: [Interní Med.: Vitaminy \(internimedica.cz\)](https://www.internimedica.cz/)
40. Společnost pro výživu. (2015). *Kyselina listová* [online]. [cit. 2021-10-08]. Dostupné z: <https://www.vyzivaspol.cz/kyselina-listova-2/>
41. Společnost pro výživu. (2019). *Referenční hodnoty pro příjem živin 2.vydání.*, Praha: Výživaservis s.r.o, 2019.
42. Stránský, M., (2011). Preventivní účinky kyseliny listové. *Interní Medicína*, 13(4), 159–162. Dostupné z: https://www.solen.cz/artkey/int-201104-0003_Preventivni_ucinky_kyseliny_listove.php
43. Sunkara, A., & Raizner, A. (2019). Supplemental Vitamins and Minerals for Cardiovascular Disease Prevention and Treatment. *Methodist DeBakey cardiovascular journal*, 15(3), 179–184. doi: [10.14797/mdcj-15-3-179](https://doi.org/10.14797/mdcj-15-3-179)
44. Šípek A. jr., Gregor V., Šípek A. & Calda P. (2013). Primární prevence vrozených vad a úloha kyseliny listové. *Aktuální gynekologie a porodnictví*, 5, 47-51. Dostupné z: <https://www.actualgyn.com/cz/2013/103>
45. Tian, T., Yang, K.Q., Cui, J.G., Zhou, L.L. & Zhou, X.L. (2017). Folic Acid Supplementation for Stroke Prevention in Patients With Cardiovascular Disease. *Am J Med Sci.*, 354(4), 379-387. doi: 10.1016/j.amjms.2017.05.020
46. Ting PC, Lee WR, Huo YN, Hsu SP & Lee WS. (2019). Folic acid inhibits colorectal cancer cell migration. *J Nutr Biochem*, 63, 157-164. doi: 10.1016/j.jnutbio.2018.09.020.
47. Tuček, M. Slámová, A. a kol. (2012). *Hygiena a epidemiologie pro bakaláře*. Praha: Univerzita Karlova, nakladatelství Karolinum.
48. Velíšek, J., & Hajšlová, J. (2009). *Chemie potravin 1*. Tábor: OSSIS.
49. Vlachová, I. (2004). Hyperhomocysteinémie a riziko ischemických cévních mozkových příhod. *Klin Farmakol Farm*, 18(1), 26–29. Dostupné z: https://www.solen.cz/artkey/far-200401-0006_Hyperhomocysteinemie_a_riziko_ischemickyh_cevnich_mozkovyh_prihod.php
50. Wan Ismail WR, Abdul Rahman R, Rahman NAA, Atil A, Nawi AM. (2019). The Protective Effect of Maternal Folic Acid Supplementation on Childhood Cancer: A Systematic Review

- and Meta-analysis of Case-control Studies. *J Prev Med Public Health.*, 52(4), 205-213. doi: 10.3961/jpmph.19.020
51. Wang, Y., Jin, Y., Wang, Y., Li, L., Liao, Y., Zhang, Y. & Yu, D. (2019). The effect of folic acid in patients with cardiovascular disease: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*.98(37) doi: 10.1097/MD.00000000000017095
 52. World Health Organization. (2004). *Vitamin and mineral requirements in human nutrition, 2nd edition*. Dostupné z: <https://www.who.int/publications/i/item/9241546123>
 53. Yi Gu, Jie Zeng, Yixin Zou, Chang Liu, Hongjuan Fu & Hui Chang. (2021). Folate Intake and Risk of Urothelial Carcinoma: A Systematic Review and Meta-Analysis of Epidemiological Studies, *Nutrition and Cancer*, doi: 10.1080/01635581.2021.1973518
 54. Zadák, Z. (2008). *Výživa v intenzivní péči*. Praha: Grada.
 55. Zákon č. 372/2011 Sb. o zdravotních službách a podmínkách jejich poskytování (zákon o zdravotních službách).
 56. Zhang X, Bao G, Liu D, Yang Y, Li X, Cai G, Liu Y & Wu Y. (2021). The Association Between Folate and Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front. Neurosci.* 15. doi: 10.3389/fnins.2021.661198
 57. Zheng, L., Huang, J., Kong, H., Wang, F., Su, Y. & Xin, H. (2020). The effect of folic acid throughout pregnancy among pregnant women at high risk of pre-eclampsia: A randomized clinical trial. *Pregnancy, Hypertension*, 19, 253-258, doi: 10.1016/j.preghy.2020.01.005.
 58. Zhou Y, Sinnathamby V, Yu Y, et al. (2020). Folate intake, markers of folate status and oral clefts: An updated set of systematic reviews and meta-analyses. *Birth Defects Research*, 112, 1699–1719. doi: 10.1002/bdr2.1827
 59. Zlatohlávek, L. (2016). *Klinická dietologie a výživa*. Praha: Current Media.

Seznam zkratek

AD	Alzheimer's disease – Alzheimerova choroba
AMK	aminokyseliny
ASD	autism spectrum disorders – poruchy autistického spektra
CMP	cévní mozková příhoda
CNS	centrální nervová soustava
ČR	Česká republika
ČSÚ	Český statistický úřad
DACH	Německo – D, Rakousko – A, Švýcarsko – CH výživová doporučení německy hovořících zemí přijímaná v ČR
DFE	dietary folate equivalent – ekvivalent kyseliny listové
DNA	deoxyribonucleic acid – deoxyribonukleová kyselina
EFSA	European Food Safety Authority – Evropský úřad pro bezpečnost potravin
EU	Evropská unie
FAO	Food and Agriculture Organization – Organizace pro výživu a zemědělství
IOM	Institute of Medicine
KVO	kardiovaskulární onemocnění
MTHFR	methylnetetrahydrofolátreduktáza
NIH	National Institute of Health
NO	oxid dusnatý
NTD	neural tube defects – defekty neurální trubice
PE	preeklampsie
USA	United States of America – Spojené státy americké
USDA	United States Department of Agriculture – Americké ministerstvo zemědělství
VV	vývojové vady
WHO	World Health Organization – Světová zdravotnická organizace
5-MTHF	5-methylnetetrahydrofolát

Seznam grafů

Graf 1: Výsledky analýzy obsahu 5-MTHF v moči ($\mu\text{g/g}$ krea) ze 3 odebraných vzorků v průběhu těhotenství (v 1., 2. a 3. trimestru)	50
Graf 3: Srovnání průměrných hodnot 5-MTHF v 1., 2. a 3. odběru	51
Graf 2: Procentuální zastoupení vzorků podle typu změny naměřených hodnot 5-MTHF v porovnání prvního odběru a následných odběrů	52
Graf 4: Rozložení věku respondentek	52
Graf 5: Nejvyšší dosažené vzdělání respondentek	53
Graf 6: Počet těhotenství respondentek	53
Graf 7: Výskyt vývojové vady nebo jiného postižení plodu v předchozím těhotenství	54
Graf 8: Výskyt vývojové vady nebo jiného postižení dítěte v příbuzenství	54
Graf 9: Práce ženy v rizikovém, tj. zdraví škodlivém prostředí	55
Graf 10: Návyk kouření před zjištěním těhotenství (jak dlouho)	55
Graf 11: Návyk kouření v průběhu těhotenství	56
Graf 12: Povědomí respondentek o významu zvýšeného příjmu kyseliny listové v těhotenství a kdy se o tom dozvěděly	56
Graf 13: Uvedené zdroje informací o významu příjmu kyseliny listové v těhotenství podle respondentek, které se o něm dozvěděly již dříve	57
Graf 14: Užívání kyseliny listové ve formě doplňku stravy od počátku těhotenství a/nebo zvýšení konzumace potravin s jejím vyšším obsahem	58
Graf 15: Četnost užívání doplňku stravy s kyselinou listovou	59

Seznam tabulek

Tabulka 1:Doporučený denní příjem ekvivalentu kyseliny listové na den pro různé věkové kategorie podle DACH a FAO/WHO	22
Tabulka 2: Obsah folátů v potravinách rostlinného původu (μg/100 g) dle USDA, 2021.....	23
Tabulka 3:Obsah folátů v potravinách živočišného původu (μg/100g) dle USDA, 2021	24
Tabulka 4:Faktory přispívající k nedostatku kyseliny listové (Zdroj: Combs, 2012).....	40
Tabulka 5:Hlavní příznaky deficitu kyseliny listové (Zdroj: Combs, 2012)	41

Seznam obrázků

Obrázek 1:Strukturní vzorec kyseliny pteroylglutamové (Hrnčířová, 2017).....	13
Obrázek 2: Strukturní vzorec kyseliny tetrahydrofolové (volné dílo)	13
Obrázek 3:Schéma vzniku aktivního metabolitu kyseliny listové 5-methyltetrahydrofolátu (Koucký, 2011)	16
Obrázek 4:Schéma jednouhlíkatého metabolismu kyseliny listové (Scaglione & Panzavolta, 2014)	18
Obrázek 5: Chemická struktura homocysteinu (volné dílo).....	19
Obrázek 6:Spina bifida occulta = uzavřený rozštěp páteře, Meningokéla a Myelomeningokéla = otevřené varianty rozštěpu páteře (volné dílo).....	32
Obrázek 7: Vzorky moče	46
Obrázek 8: Centrifuga	47
Obrázek 9: Pipetování vzorků do jamek ELISA destičky.....	47
Obrázek 10: Inkubátor	48
Obrázek 11: Přidání substrátu TMB, který reaguje s enzymem za vzniku modrého zabarvení	48
Obrázek 12: Pipetování Stop roztoku	49
Obrázek 13: Multiscan reader EPOCH (BioTech).....	49

Seznam příloh

Příloha č. 1: Dotazník

DOTAZNÍK

Kód: FA

Název studie:

Význam kyseliny listové ve výživě těhotných a v prevenci vývojových vad u dětí

Odpovězte prosím na všechny otázky ANO / NE a odpověď zakroužkujte.

Věk

Nejvyšší dosažené vzdělání? *podtrhněte jednu možnost*

- základní vzdělání (i neukončené)
- středoškolské vzdělání bez maturity (SOŠ, SOU)
- střední vzdělání s maturitou
- vysokoškolské vzdělání

Těhotenství

první ANO NE

druhé ANO / NE

třetí ANO / NE

další ANO / NE uveďte počet

Výskyt vývojové vady nebo jiného postižení dítěte v předchozím těhotenství (pokud již bylo) ANO / NE

Výskyt vývojové vady nebo jiného postižení dítěte v příbuzenství (*sourozenci, sestřenice, jiné... uveďte*) ANO / NE

Pracujete/pracovala jste v rizikovém (zdraví škodlivém) prostředí? ANO / NE

Pokud ano, v jakém? (působení chemických látek, záření, jiném atd.)

Kouřila jste před zjištěním těhotenství? ANO / NE

Pokud ano, kolik roků (*uveďte*)

Kouříte v současné době? ANO / NE

O významu zvýšeného příjmu kyseliny listové v těhotenství:

- jsem dříve nevěděla, až na základě upozornění v těhotenské poradně
- vím již dříve z – (vyberte a podtrhněte) ... škola, internet, kamarádky, jiný zdroj
.....

Na základě informací o významu kyseliny listové od počátku těhotenství:

- jsem zvýšila konzumaci potravin s jejím vyšším obsahem ANO/NE
- používáním doplňků potravin - preparátů zakoupených v lékárně ANO/NE

(uveďte název preparátů a četnost používání)

- a) denně b) 3x v týdnu c) 1x v týdnu d) 1x za 14 dní (podtrhněte)

Děkujeme Vám za vyplnění dotazníku

Datum :

Protokol o úplnosti náležitostí diplomové práce

Jméno autora: Bc. Veronika Chalánková

Název práce: Preventivní účinky kyseliny listové ve výživě člověka

Vedoucí práce: RNDr. Milena Bušová, CSc.

Prohlašuji, že jsem odevzdala vysokoškolskou kvalifikační práci v souladu s:

Opatřením rektora č. 6/2010 (dostupné z <http://www.cuni.cz/UK-3470.html>)

Opatřením rektora č. 8/2011 (dostupné z <http://www.cuni.cz/UK-3735.html>)

Opatřením děkana č. 10/2010 (dostupné z http://www.lf1.cuni.cz/file/21321/opad10_10.pdf)

Zároveň prohlašuji, že jsem do Studijního informačního systému vložila plný **text vysokoškolské kvalifikační práce** včetně všech povinných souborů podle typu práce:

- abstrakt ČJ
- abstrakt AJ

Při vkládání textu práce a všech souborů jsem postupovala podle návodu dostupného z http://www.lf1.cuni.cz/file/25838/navod_vkladani_prace.pdf. Nahrané soubory jsem následně zkontrolovala. Odpovídám za správnost a úplnost elektronické verze práce a všech dalších vložených elektronických souborů.

1 exemplář práce svázaný v pevné plátěné vazbě v příloze obsahuje všechny povinné náležitosti:

Příloha č. 1 – Titulní strana, Prohlášení diplomanta, Identifikační záznam, abstrakt v ČJ a AJ - http://www.lf1.cuni.cz/file/21323/opad10_10_pril1.pdf

Příloha č. 6 – Prohlášení zájemce o nahlédnutí - http://www.lf1.cuni.cz/file/21329/opad10_10_pril6.pdf

Datum: 30. 11. 2021

Podpis studenta:

Kontrolu úplnosti náležitostí provedla osoba pověřená garantem:

