

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Klinický význam vitamínů skupiny B
Denisa Cymorková

Bakalářská práce
2021

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Denisa Cymorková**
Osobní číslo: **C17148**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Klinický význam vitamínů skupiny B**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

- 1) Na základě odborné literatury uspořádejte aktuální informace o vitamínech skupiny B.
- 2) Blíže se zaměřte na klinické využití jednotlivých vitamínů skupiny B.
- 3) Věnujte pozornost také metodice stanovení jednotlivých vitamínů skupiny B v lidském biologickém materiálu, včetně podmínek pro odběr, transport a uchování vzorku.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Pavla Žáková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2020**
Termín odevzdání bakalářské práce: **2. července 2021**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 26. února 2021

Prohlašuji:

Práci s názvem Klinický význam vitamínů skupiny B jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

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

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

V Pardubicích dne 13.7. 2021

Denisa Cymorková

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych ráda poděkovala především Mgr. Pavle Žákové PhD., vedoucí mé bakalářské práce, za odborné vedení, vstřícný přístup a trpělivost. Děkuji také mé rodině za velkou podporu při psaní této práce.

ANOTACE

Tato bakalářská práce se zabývá všeobecnými informacemi o vitamínech skupiny B jednotlivě. U každého vitamínu je popsána jejich historie, funkce, výskyt, doporučené denní dávky, nedostatek a v některých případech i jejich vedlejší účinky při nadměrné suplementaci. Tato práce se také zaměřuje na jejich stanovení a klinické využití.

KLÍČOVÁ SLOVA

vitamíny skupiny B, nedostatek, stanovení, klinický význam

TITLE

The clinical significance of vitamin B group

ANNOTATION

This bachelor thesis is concern with general information of vitamins B group individually. For each vitamin there is their history, function, occurrence, recommended daily allowances, deficiency and in some cases their side effects of excessive supplementation. The work also focuses on their determination and clinical use.

KEYWORD

vitamins B group, deficiency, assessment, clinical significance

OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ	10
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK	11
ÚVOD	12
1. Vitamín B1	13
1.1 Historie	13
1.2 Popis a funkce.....	13
1.3 Výskyt a dávkování	14
1.4 Nedostatek a nadbytek.....	14
1.4.1 Nemoc Beri-beri.....	14
1.4.2 Wernicke-Korsakovův syndrom	15
1.5 Vyšetření.....	16
1.5.1 Aktivita transketolázy	17
1.5.2 Chromatografické techniky	17
1.6 Klinické využití	18
2. Vitamín B2.....	20
2.1 Historie	20
2.2 Popis a funkce.....	20
2.3 Výskyt a dávkování	21
2.4 Nedostatek a nadbytek.....	22
2.4.1 Brown-Vialetto-van Laere syndrom a Fazio-Londe choroba	22
2.5 Vyšetření.....	23
2.5.1 Aktivita glutathionreduktázy.....	23
2.5.2 LC-MS/MS.....	23
2.6 Klinické využití	23
3. Vitamín B3.....	25
3.1 Historie	25
3.2 Popis a funkce.....	25
3.3 Výskyt a dávkování	26
3.4 Nedostatek a nadbytek.....	26
3.4.1 Pelagra.....	27
3.5 Vyšetření.....	27
3.6 Klinické využití	28
4. Vitamín B5.....	29

4.1	Historie	29
4.2	Popis a funkce.....	29
4.3	Výskyt a dávkování	30
4.4	Nedostatek a nadbytek.....	30
4.4.1	PKAN.....	30
4.5	Vyšetření.....	31
4.6	Klinický význam	31
5.	Vitamín B6.....	33
5.1	Historie	33
5.2	Popis a funkce.....	33
5.3	Výskyt a dávkování	34
5.4	Nedostatek a nadbytek.....	35
5.4.1	Epilepsie závislá na pyridoxinu	35
5.5	Vyšetření.....	36
5.5.1	PAr	36
5.5.2	Tryptofan loading-test	37
5.6	Klinické využití	37
6.	Vitamín B7.....	38
6.1	Historie	38
6.2	Popis a funkce.....	38
6.3	Výskyt a dávkování	39
6.4	Nedostatek a nadbytek.....	39
6.5	Vyšetření.....	40
6.6	Klinické využití	41
7.	Vitamín B9.....	42
7.1	Historie	42
7.2	Popis a funkce.....	42
7.3	Výskyt a dávkování	43
7.4	Nedostatek a nadbytek.....	43
7.4.1	Poruchy neurální trubice	44
7.5	Vyšetření.....	44
7.6	Klinické využití	45
8.	Vitamín B12.....	46
8.1	Historie	46

8.2	Popis a funkce.....	46
8.3	Výskyt a dávkování	47
8.4	Nedostatek a nadbytek.....	48
8.4.1	Nedostatek vitamínu B12 u matky a dítěte	49
8.4.2	Megaloblastická anémie.....	49
8.5	Vyšetření.....	50
8.5.1	Chemiluminiscenční analýza	50
8.5.2	Radioizotop a hmotnostní spektrometrie	51
8.6	Klinický význam	51
9.	Vitamíny B v současnosti	53
9.1	Covid	53
9.2	Rakoviny.....	54
9.3	Deprese	55
9.4	Diabetes mellitus	55
	ZÁVĚR	57
	POUŽITÁ LITERATURA	59

SEZNAM ILUSTRACÍ

Obrázek 1 CHEMICKÝ VZOREC VITAMÍNU B1.....	13
Obrázek 2 CHEMICKÝ VZOREC BFT	19
Obrázek 3 CHEMICKÝ VZOREC VITAMÍNU B2.....	20
Obrázek 4 PŘEMĚNA RIBOFLAVINU.....	21
Obrázek 5 CHEMICKÝ VZOREC VITAMÍNU B3.....	25
Obrázek 6 CHEMICKÝ VZOREC VITAMÍNU B5.....	29
Obrázek 7 METABOLISMUS VITAMÍNU B6.	33
Obrázek 8 CHEMICKÝ VZOREC VITAMÍNU B7.....	38
Obrázek 9 SENDVIČOVÝ TEST.	41
Obrázek 10 KOMPETITIVNÍ TEST.....	41
Obrázek 11 CHEMICKÝ VZOREC VITAMÍNU B9.....	42
Obrázek 12 CHEMICKÝ VZOREC VITAMÍNU B12.....	46
Obrázek 13 ABSORPCE A TRANSPORT VITAMÍNU B12	47

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

TMP- tiamin monofosfát

TDP- tiamin difosfát

EDTA- ethylendiamintetraoctovou kyselinou

TCA- kyselina trichloroctová

ETK- enzym transketoláza v erytrocytech

HPLC- vysoce účinná kapalinová chromatografie

UHPLC- ultra vysokoúčinná kapalinová chromatografie

LC-MS/MS- kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií

ETKAC- koeficient aktivity transketolázy erytrocytů

BFT- benfotiamin

FMN- flavinmononukleotid

FAD- flavinadenindinukleotid

BVVLS- Brown-Vialetto-Van Laere syndrom

BVVLS1- Brown-Vialetto-Van Laere syndrom typu 1

RS- roztroušená skleróza

NAD- nikotinamidadenindinukleotid

NADP- nikotinamidadenindinukleotidfosfát

CoA- koenzym A

PKAN- neurodegenerace asociovaná s pantotenátkináзой

PAr- poměr kyseliny 4-pyridooxové a pyridoxalfosfátu spolu s pyridoxalem

T2DM- diabetes mellitus typu 2

GDM- gestační diabetes mellitus

ÚVOD

Vitamíny skupiny B jsou vitamíny rozpustné ve vodě. Do této skupiny patří vitamín B1, B2, B3, B5, B6, B7, B9 a B12. Tyto vitamíny jsou důležité pro správné fungování lidského organismu. Musí se přijímat ze stravy nebo z mikrobiálních zdrojů (střevní mikroflóra). Můžou se vykytovat jak v rostlinných, tak i v živočišných produktech. U vitamínů může dojít k jejich nedostatku, existují různé příčiny. Při jejich deficitu dochází k různým poškozením. Vitamíny skupiny B obvykle nejsou toxické, ale při nadměrném požití může dojít k vedlejším účinkům. Pro zjištění jejich stavu v lidském těle se k detekci používají různé metody, můžou se stanovit jednotlivě nebo simultánně. Každý tento vitamín má svůj význam ve zdravotnictví.

Tato práce je souhrn informací, které jsou už dávno známé o vitamínech skupiny B, a novinek. Zaměřuje se na popis jednotlivých vitamínů skupiny B, na onemocnění, ke kterým dochází při jejich nedostatku. Zabývá se metodami, které se používají pro jejich stanovení v lidském biologickém materiálu. Na závěr se věnuje otázce, jak by mohly vitamíny skupiny B pomoci při onemocnění Covidem19, rakovinou, depresi a diabetem mellitus.

1. Vitamín B1

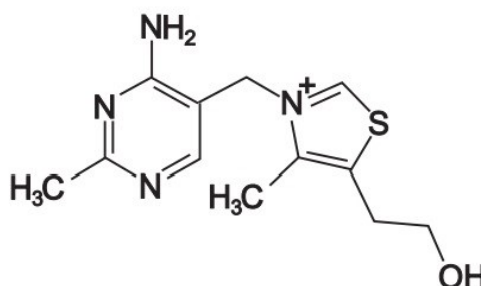
1.1 Historie

Vitamín B1 neboli tiamin byl dříve nazýván jako aneurin nebo také antiberiberi faktor. Tento název antiberiberi faktor vznikl, když lékař Takaki zjistil, že nemoc beri-beri, která se vyskytovala u námořníků v období 19. století, souvisí s příjmem potravy, kdy se jednalo pouze o oloupanou rýži.

Tiamin byl jako první ze skupiny B vitamínů, který byl přesně popsán. Ve 20. století byl izolován z rýžových otrub. Na tomto objevu se podílel chemik B. C. P. Jansen a W. F. Donath. Jeho strukturu popsal R. R. Williams o pár let později.[1]

1.2 Popis a funkce

Jeho molekula je tvořena z pyrimidinového kruhu 2,5-dimethyl-6-aminopyridin a thiazolinového kruhu 4-methyl-5-hydroxyetyl thiazol, které jsou spojené methylenovým můstkem (Obrázek 1). [2] V těle člověka se vyskytuje jak volný tiamin, tak i jeho sloučeniny tiamin monofosfát (TMP), difosfát (TDP) a trifosfát. TDP je hlavní biologicky aktivní sloučeninou tiaminu, do této skupiny patří především tiamin pyrofosfát. [3]



Obrázek 1 CHEMICKÝ VZOREC VITAMÍNU B1. Převzato z [1]

Vitamín B1 se vstřebává v jejunu a ileu tenkého střeva. Jeho vstřebávání je zprostředkováno pasivní difúzí nebo aktivním transportem, když je nízká koncentrace. V lidském těle se tiamin vyskytuje nejvíce v kosterním svalstvu, srdci, mozku a ledvinách. Z těla je vyloučen močí.

Je brán jako koenzym dekarboxylačních reakcí. Je součástí enzymů, které se uplatňují v metabolismu aminokyselin, tuků a sacharidů, především glukózy. Dochází také k ovlivnění

činnosti Krebsova cyklu. Tiamin má také důležitou roli v energetickém metabolismu nervových buněk. [4]

1.3 Výskyt a dávkování

Tiamin se nachází v celozrnných obilovinách, v masových výrobcích, hlavně v hovězím a vepřovém mase. Dále se vyskytuje v luštěninách (fazole, hrášek), v mléčných výrobcích a také v rýži, ale v leštěné rýži chybí.

Denní dávka tiaminu se liší podle věku a pohlaví, je to dáno podle spotřeby energie. Pro děti to není ani 1 mg/den, kdy doporučená dávka, v období od narození po 9 let, je v intervalu od 0,2 do 0,9 mg/den. U dospělých mužů je dávka kolem 1,2-1,5 mg/den, za to u žen je to méně 1-1,1 mg/den. U těhotných a kojících žen se spotřeba energie zvyšuje, proto je důležité, aby se zvýšil také příjem vitamínu B1 a to na 1,5 mg/den. [1, 5]

1.4 Nedostatek a nadbytek

Tiamin se vyskytuje ve všech buňkách, v takovém případě při jeho nedostatku může dojít k nežádoucím změnám ve všech orgánových systémech. Kdy nejcitlivější na nedostatek jsou hlavně buňky srdce a nervové soustavy. [6] Dochází ke snížení aktivity enzymů, pro které je tiamin důležitý. To vede k narušení metabolických reakcí, především pro tvorbu energie. [7] Vyšší dávky tiaminu by neměly ohrozit lidské tělo. Mohou se, ale vyskytnout alergické reakce při dávkách 5-10g. [2]

Důvodem nedostatku vitamínu B1 může být nekvalitní příjem potravy, ale také i omezené stravování, kdy pacient trpí rakovinou obličeje, nebo při omezení vstřebávání u rakoviny žaludku nebo střeva. Nedostatek tiaminu může být i u komplikací po chirurgickém zákroku nebo při alkoholismu.[7] V ohrožení bývají i kojenci, především když jejich matka má sama problémy s nedostatkem tiaminu. [3]

Mezi příznaky při nedostatku patří únava, porucha spánku, anorexie, špatná paměť a podráždění. [5] Onemocnění, které souvisí s nedostatkem vitamínu B1, je nemoc beri-beri, které ovlivňuje buď kardiovaskulární nebo nervový systém, ale také může ovlivňovat oba systémy najednou. Dalším onemocněním je Wernicke-Korsakovův syndrom. [3] Nedostatek vitamínu B1 je také součástí Alzheimerovy choroby. [2]

1.4.1 Nemoc Beri-beri

Nemoc beri-beri rozdělujeme na dvě formy. První forma je suchá, která napadá hlavně nervový systém. Ta druhá může ovlivnit kardiovaskulární systém, jedná se o vlhkou neboli srdeční formu. [5]

Při suché formě této nemoci jsou postiženy hlavně dolní končetiny, kdy pacient trpí parestézií, bolestmi nohou, křečemi v lýtkách a může taky dojít k atrofii svalstva. Může dojít i k postižení vyššího nervového centra. Pacient má vyšší riziko infekce. [5, 8]

Při srdeční formě dochází k vysokému srdečnímu výdeji. Dochází k tachykardii, pocení a zadržování vody v těle kvůli laktátové acidóze. Srdce nefunguje správně a vytvářejí se otoky. Většina pacientů skončí v nemocnici na oddělení jednotky intenzivní péče. Pokud pacient nepodstoupí léčbu, může dojít až ke smrti. [5, 9]

Beri-beri se taky vyskytuje u dětí, především v zemích, které mají nedostatek potravin obsahující vitamín B1. A to v zemích, které jsou ve střední a jihovýchodní Asii, ale také v západní Africe, v Angole, na ostrově Mayotte a na Kubě. V rizikové skupině jsou hlavně děti v prvním roce života během kojení. Mezi druhým a čtvrtým měsícem věku dítěte začínají příznaky, jako podrážděnost, zvracení, odmítnutí kojení, neustálý pláč. Později dochází k selhání srdce. Tato nemoc postupuje velmi rychle a bez podání vitamínu B1 může dojít až ke smrti.[3, 5]

1.4.2 Wernicke-Korsakovův syndrom

Tento syndrom se skládá ze dvou nemocí Wernickeovy encefalopatie a Korsakovovy psychózy. Kdy příznaky u Wernickeovy encefalopatie jsou zmatenost, dezorientace, nystagmus, oftalmoplegie, diplopie a ataxie. Korsakovova psychóza se projevuje chorobnou obrazotvorností a ztrátou paměti. [8]

Wernickeova encefalopatie se vyskytuje u pacientů infikovaných HIV, po bariatrické operaci nebo také u těhotných žen, které trpí hyperemesis gravidarum. Toto onemocnění se hlavně nachází u alkoholiků a může být doprovázené Korsakovovou psychózou, kdy se už jedná o těžší formu. U alkoholiků dochází ke špatnému příjmu potravy. Dále dochází ke zvýšené spotřebě tiaminu při metabolismu sacharidů, protože strava alkoholiků je bohatá na sacharidy. Současně dochází k nedostatku magnesia, které pomáhá vázat tiamin na enzymy. Alkohol je schopen inhibovat ATPázu, která pomáhá vychytávat vitamín B1. Pokud je pacient

léčen ještě před poškozením mozku, tak je možné vyléčit neurologické problémy, ale pokud pacient nepodstoupí léčbu, dojde k trvalému poškození mozku. [3, 5]

1.5 Vyšetření

V roce 2008 se Jun Lu a Elizabeth L. Frank zabývali studií na stanovení vitamínu B1. Brali v úvahu podle Losa a spol., že tiamin a TMP jsou obsaženy v plazmě a TDP je obsažen v erytrocytech. Oni sami potvrdili, že TDP je obsažen v plné krvi z 90 %. Proto se shodli, že je výhodnější stanovit aktivní formu než celkový tiamin. Kdy fyziologická hodnota by měla být 90-140 nmol/l TDP v plné krvi. Použili venózní krev, kterou odebrali do zkumavek s heparinem a s etylendiamintetraoctovou kyselinou (EDTA). Tady zjistili, že se nejedná o žádný rozdíl ve výsledcích mezi antikoagulanty heparinem a EDTA, což se shodovalo s výsledky Ihara a spol. Použili také kyselinu trichloroctovou (TCA) na vysrážení proteinů. Dále řešili problém, co se týče zmrazení vzorků. Zmrazili krev jak při -20 °C tak také při -70 °C. Došli k závěru, že ve vzorku, který byl uchován při -70 °C přes noc, je stanovena vyšší koncentrace, než při -20 °C, kdy nedojde k úplné lýze erytrocytů. [10] V roce 2009 Körner a spol. došli k závěru, že je lepší použít EDTA jako antikoagulant, protože heparin inhibuje alkalickou fosfatázu a také aktivaci tiamindifosfatázy. [11] V dnešní době je stále bráno, že v plazmě i séru se nachází malá část tiaminu, a tak stanovení koncentrace tiaminu v tomto biologickém materiálu je omezené. Kdy tiamin v plazmě není vhodný jako biomarker jeho dlouhodobého stavu kvůli ovlivnění nedávným příjmem potravy. Tudíž pro stanovení dlouhodobého stavu tiaminu se používá měření tiaminu v erytrocytech nebo v plné krvi pacienta, nebo také měření enzymu transketoláza v erytrocytech (ETK). [12] V nedávno vydaném odborném článku popisovali přípravu vzorku pro stanovení vitamínu B1, kde se zmínili o využití antikoagulantů EDTA i heparinu. Na rozdíl od Körner a spol. se nezmínili o žádných rozdílech mezi těmito antikoagulanty. Popisovali také skladování, kdy vzorky je třeba uchovat v chladu a chránit před světlem. Od roku 2008 se fyziologická koncentrace TDP v plné krvi změnila na 70-180 nmol/l a fyziologická hodnota pro celkový tiamin v plné krvi je 75-195 nmol/l. [3] Vyšetření tiaminu v moči, sbíranou 24 hodin, je spolehlivější než vyšetření z náhodné moče, ale i tak dostáváme stále nedostatek informací.

Pro stanovení tiaminu a jeho derivátů se používají jak nepřímé, tak i přímé metody. Metoda nepřímá, která se stále využívá, je stanovení aktivity transketolázy v erytrocytech. Mezi přímé metody pro analýzu tiaminu patří vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC),

ultra vysokoúčinná kapalinová chromatografie (UHPLC) a také průtoková injekční analýza. [13]

1.5.1 Aktivita transketolázy

Enzym transketoláza, který je závislý na TDP, je katalyzátorem pro reakce v pentózo-fosfátovém cyklu. [12] Jeho aktivitu určujeme jako koeficient aktivity transketolázy erytrocytů (ETKAC). Existují dvě měření na získání ETKAC. První měření se zaměřuje na bazální aktivitu ETK, a to druhé na aktivovanou nebo stimulovanou aktivitu ETK po přidání přebytku TDP. Aktivační koeficient (α) je tedy poměr aktivované k bazální aktivitě, kdy vyšší α znamená větší nedostatek tiaminu. [12, 14]

Používá se venózní krev. Pro měření aktivity transketolázy je doporučeno použití promytých erytrocytů. Koeficienty aktivity mezi erytrocyty a plnou krví jsou podobné, ale kvůli rozdílnému počtu leukocytů mezi lidmi, může dojít k nepřesnému měření v plné krvi. Jako antikoagulant je možno použít EDTA nebo lithium heparin. Pokud je plná krev skladována při 4 °C nebo pokojové teplotě, tak koeficient aktivity je stabilní 24 hodin. Pro promyté erytrocyty nebo hemolyzáty je doporučeno skladování při -70 °C nebo nižší teplotě.

Měření bazální aktivity představuje aktivitu holo-transketolázy. Po přidání exogenního TDP je aktivována apo-transketoláza. Stimulovaná aktivita tedy představuje apo-transketolázu a také i holo-transketolázu. Pokud je v krvi dostatek tiaminu, tak přídavek TDP změní aktivitu enzymu jen nepatrně, ale pokud je nedostatek tiaminu, přídavek TDP zvyšuje aktivitu. Jedná se o nedostatek tiaminu, když hodnota ETKAC je vyšší než 1,25. Hodnota 1,4 a vyšší je spojována s nemocí beri-beri. Pokud pacient má hodnotu, která je mezi 1,15-1,25, znamená to riziko deficitu. Tedy fyziologická hodnota je nižší než 1,15. [12]

1.5.2 Chromatografické techniky

Chromatografické techniky jsou pro separaci sloučenin, které chceme stanovit ve vzorku. Také jsou schopny rozlišit několik forem vitamínů, které mohou mít podobnou absorbanci. Pro rychlou analýzu tiaminu se nejčastěji používají techniky HPLC nebo UHPLC. [13]

Analýzu tiaminu, především TDP, je možno provést pomocí HPLC s před nebo pokolonovou derivatizací s fluorescenční detekcí. Vzorky se připravují odstraněním proteinů a

derivatizací, kdy vznikají fluorescenční thiochromové sloučeniny. Tyto sloučeniny se poté oddělí na analytické koloně s reverzní fází, dále se detekují a kvantifikují.

Pro analýzu tiaminu se také vyvinula kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS). Toto měření je citlivé, selektivní, rychlejší a vyžaduje menší objemy vzorků, ale přístroje jsou dražší než HPLC. [3]

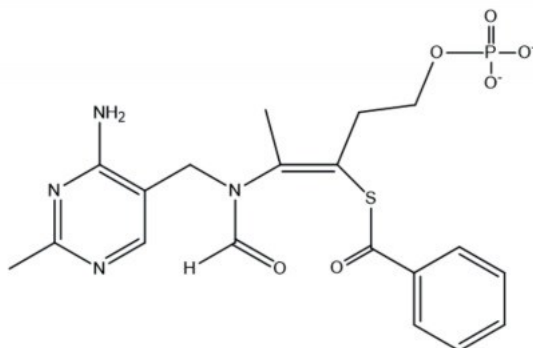
1.6 Klinické využití

Vitamín B1 individuálně, ale také i v kombinaci s vitamíny B6 a B12, má analgetické účinky jak při léčbě neuropatické (polyneuropatie, revmatologické nemoci) tak i nociceptivní bolesti (akutní bolest zad, osteoartritida). Vitamín B1 pomáhá k potlačení bolesti, když působí na sodíkové kanály poškozeného neuronu. Ovlivňuje také zvýšení sekrece serotoninu, což je reakce na podnět vyvolávající bolest. Při aplikaci vitamínu B1 do intratekálního prostoru, což se obvykle provádí v místě bederní páteře, dochází k aktivaci signální dráhy oxidu dusnatého proteinkinázou G a tím je inhibována hyperalgezie. Dále dochází k inhibici šíření signálů bolesti díky navázání cyklického guanozin-monofosfátu na draslíkové kanály. Bylo zjištěno, že perorální dávka 50 mg vitamínu B1 jednou denně je účinná proti neuropatické bolesti. Intravenózní dávka tiaminu, a to 10-30 g, působí anesteticky. [4]

Tiamin se používá u pacientů s depresí, úzkostí, poruchou spánku, anorexií, poruchou trávení. Je také důležitý při léčbě nemoci beri-beri a Wernicke-Korsakovového syndromu, čím dřív se podá, tím rychleji se pacient uzdraví. U rizikových osob se podává tiamin intramuskulárně 100mg třikrát denně po dobu 3-5 dní nebo 250 mg 3-5 dní. U pacientů s Wernicke-Korsakovovým syndromem se tiamin podává intravenózně 100-500 mg po dobu nejméně 5 dnů a potom menší dávky, dokud nedojde ke zlepšení, ale i poté je nutné dlouhodobé perorální podávání tiaminu. Podle různých studií má tiamin dobré účinky i na pacienty s Alzheimerovou chorobou. [2]

Benfotiamin (BFT) je syntetický, v tucích rozpustný derivát tiaminu. Jeho účinky jsou účinnější a je také dostupnější než samotný tiamin. Na rozdíl od tiaminu má otevřený thiazolový kruh (Obrázek 2). BFT se ve střevě přemění na S-benzoyltiamin, který snadno difunduje přes membrány. V krvi je zachycen erytrocyty a přeměněn na aktivní tiamin. BFT inhibuje hexosaminovou cestu, pokročilou glykaci a cestu diacylglycerol-proteinkinázy C, to jsou základní cesty, které vedou k hyperglykemickému poškození. BFT má antioxidační účinky. Také pomáhá k ochraně před komplikacemi spojenými s cukrovkou včetně nefropatie,

neuropatie, retinopatie a kardiomyopatie a to tím, že aktivuje transketolázu. V dalších studiích prokázali, že je schopný modulovat různé signální dráhy, které se účastní různých onemocnění nebo fyziologických procesů. [1, 2, 15]



Obrázek 2 CHEMICKÝ VZOREC BFT. Převzato z [15]

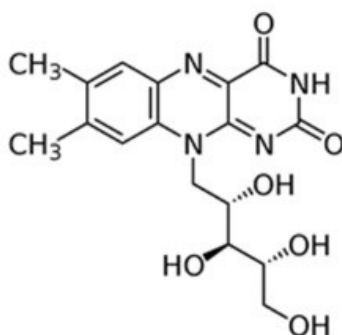
2. Vitamín B2

2.1 Historie

Vitamín B2 byl izolován z mléka jako nažloutlý pigment v 70. letech 19. století, který pojmenovali jako laktochrom. Ve třicátých letech 20. století Paul György, Richard Kuhn a Theodore Wagner-Jauregg úspěšně izolovali a očistili vitamín B2, který v tu chvíli nazvali jako flavin. Vitamín B2 byl také izolován jak z vaječného bílku, tak z moči, z jater a ze syrovátky, kdy zjistili, že v čistých krystalických sloučeninách flavinů se vyskytuje ribóza. Od té doby vitamín B2 nese taky název riboflavin. [16, 17]

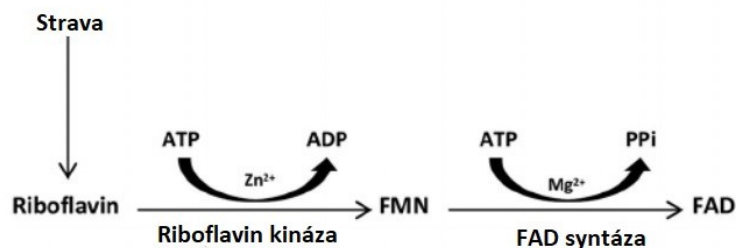
2.2 Popis a funkce

Molekula riboflavinu se skládá z isoalloxazinového kruhu, ke kterému je připojen ribitolový řetězec (Obrázek 3). Riboflavin je prekurzorem dvou kofaktorů flavinmononukleotid (FMN) a flavinadeninindinukleotid (FAD), tyto dvě formy riboflavinů jsou zapojeny do metabolismu energie. Riboflavin je transformován na FMN a FMN je přeměněn na FAD. [18, 19]



Obrázek 3 CHEMICKÝ VZOREC VITAMÍNU B2. Převzato z [20]

Jak volný riboflavin, tak i FAD a FMN jsou přijímány v potravě. Kdy FAD a FMN jsou v potravě vázány na proteiny, které se denaturují v žaludku a poté dochází k přeměně na volný riboflavin hydrolýzou alkalickými fosfatázami. V tenkém střevě je riboflavin absorbován, kdy proniká do enterocytů prostřednictvím transportéru RFVT. Poté je znovu přeměněn na své dvě formy (FAD a FMN) pomocí dvou enzymů riboflavinkinázy a FADsyntázy (Obrázek 4). V cirkulující krvi se riboflavin váže na albumin nebo imunoglobuliny v plazmě a riboflavin v erythrocytech nebo leukocytech se přemění na jeho kofaktory. Riboflavin se v těle neukládá, je vylučován močí. [19]



Obrázek 4 PŘEMĚNA RIBOFLAVINU. Převzato a upraveno z [19]

FMN a FAD jsou důležité pro různé fyziologické funkce v těle jako je redoxní homeostáza, DNA oprava, skládání proteinů, metabolismus cholinu, oxidace aminokyselin a β -oxidace mastných kyselin. [21] FAD je důležitý pro činnost glutathionreduktázy, což je antioxidační enzym. Riboflavin je také součástí metabolismu vitamínů pyridoxinu, niacinu a folátu. FMN je důležitý pro enzym pyridoxinfosfát oxidázu, který katalyzuje přeměnu pyridoxaminfosfátu a pyridoxinfosfátu na pyridoxalfosfát. FAD je potřeba pro enzym kynureninmonooxygenázu, který katalyzuje přeměnu tryptofanu na niacin. Další enzym pro metabolismus vitamínů, který je závislý na riboflavinu, je methyilentetrahydrofolát reduktáza. [18]

2.3 Výskyt a dávkování

Riboflavin se vyskytuje jak v živočišných, tak i rostlinných zdrojích. Mezi živočišné zdroje patří vnitřní orgány, drůbež, ryby a vejce. Vysoký obsah riboflavinu najdeme v mléce a mléčných výrobcích. Mezi rostlinné zdroje patří některé druhy ovoce nebo zelená zelenina jako je brokolice. V obilovinách je nízký přírodní obsah riboflavinu, ale pokud jsou obiloviny správně zpracované pro obohacení, zvyšuje se jeho obsah. Je potřeba si dávat pozor, na různé zpracování potravy, protože může dojít ke ztrátám vitamínu B2 jako je například: kvašení a mletí. Riboflavin v přítomnosti UV záření se degraduje, proto je důležité nenechávat mléko na světle. [16]

Denní doporučená dávka vitamínu B2 pro dospělé muže by měla být 1,3 mg/den a pro ženy 1,1 mg/den. U těhotných žen je množství vitamínu B2 zvýšeno na 1,4 mg/den a během laktace na 1,6 mg/den. Pro děti je dávka doporučená mezi 0,5-0,9 mg/den a u kojenců 0,3-0,4 mg/den. [18, 19]

2.4 Nedostatek a nadbytek

Nedostatek vitamínu B2 se vyskytuje hlavně v zemích, kde chybí potraviny bohaté na riboflavin jako je maso a mléko. Až po několika měsících nedostatečného příjmu se začnou vyskytovat příznaky. Mezi mírné příznaky patří bolest v krku, zánět kůže a vypadávání vlasů. Mezi ty závažnější příznaky patří anémie, poruchy nervových funkcí a otok jazyka. [22] Vyšší dávky riboflavinu by neměly škodit lidskému tělu, a to nejspíše hlavně díky jeho rozpustnosti ve vodě.

Diabetes mellitus, některé druhy rakoviny, vrozené srdeční vady, onemocnění štítné žlázy, nadměrný příjem alkoholu, stres a trauma zvyšují riziko nedostatku vitamínu B2. [18] Mezi rizikové skupiny patří také těhotné ženy, u kterých se zvyšuje spotřeba riboflavinu. Riboflavin je jeden z vitamínů, který je důležitý pro správný vývoj plodu. V tomto případě není ohrožena jenom matka, ale i plod. Zvýšené riziko je hlavně ve třetím trimestru, v období blížícího se porodu a během laktace. Po porodu je také riziko nedostatku pro kojence při fototerapii, která se používá při léčbě hyperbilirubinémie. [22]

K nedostatku vitamínu B2 může dojít nejen kvůli stravovacím nedostatkům, ale také i kvůli dědičnému omezení schopnosti absorbovat nebo využít riboflavin v těle. Jako je například nedostatek transportérů riboflavinu, tento problém se vykytuje u Brown-Vialetto-Van Laere syndromu (BVVLS) a Fazio-Londe nemoci. Různé další lidské nemoci taky mohou souviset s flavoproteiny, jako je například Leigh syndrom, jedná se o mitochondriální poruchy. [19]

2.4.1 Brown-Vialetto-van Laere syndrom a Fazio-Londe choroba

BVVLS je geneticky podmíněný syndrom způsobený mutací v genu SLC52A2, který kóduje riboflavinový transportér RFVT2. V tomto případě se jedná o Brown-Vialetto-van Laere syndrom typu 2. Brown-Vialetto-Van Laere syndrom typu 1 (BVVLS1) je způsoben mutací v genu SLC52A3, který kóduje riboflavinový transportér RFVT3. [19, 23] Příznaky obou forem jsou progresivní axonální neuropatie, optická atrofie, sensorineurální ztráta sluchu, bulbární dysfunkce a respirační nedostatečnost. Symptomy se začínají projevovat už u kojenců nebo v raném dětství. Pokud tento syndrom není léčen, dochází ke smrti u téměř poloviny pacientů. [23] Tento syndrom je vzácný, celosvětově je hlášeno 110 případů do roku 2019.

Fazio-Londe choroba je způsobená mutací v genu SLC52A3 stejně jako BVVLS1. Jedná se také o neurologickou poruchu, která připomíná BVVLS, ale u této poruchy se nevyskytuje ztráta sluchu. [24]

2.5 Vyšetření

Riboflavin lze stanovit testem aktivity enzymu glutathionreduktázy a pomocí LC-MS/MS. Bylo zjištěno, že plazmatické a erytrocytové FMN, FAD, a také aktivita glutathionreduktázy a riboflavin v plazmě korelují a všechny, až na plazmatický FAD, byly považovány za vhodné pro hodnocení stavu riboflavinu. [25]

2.5.1 Aktivita glutathionreduktázy

Tento test je založený na zjištění koeficientu aktivity glutathionreduktázy v erytrocytech. Tato metoda vyžaduje čerstvé erytrocyty, které jsou promyté. Měří se tato aktivita před a po přidání FAD. Koeficient se vypočítá jako poměr aktivity tohoto enzymu po přidání FAD k aktivitě enzymu před přidáním FAD. Pokud je hodnota vyšší, znamená to, že se v těle vyskytuje málo FAD pro glutathionreduktázu. Pokud hodnota převyšuje 1,4, jedná se o nedostatek riboflavinu. Tato metoda může být méně spolehlivá za určitých podmínek jako je pomalá přeměna riboflavinu na FMN a FAD v erytrocytech. [25, 26]

2.5.2 LC-MS/MS

Jedná se o stanovení riboflavinu kvantitativně. Tato metoda je vysoce citlivá, selektivní, jednoduchá a rychlá, kdy chromatografická doba běhu je 2,5 minut. Je spolehlivá pro vyšetření hladiny riboflavinu v lidské plazmě. [27]

V roce 2019 Min Zhang a spol. se zabývali simultánním měřením vitamínu B1, vitamínu B2 a vitamínu B6 použitím suché kapky krve. Použití suché kapky krve je výhodnější při stanovení hladiny riboflavinu u kojenců a malých dětí. Kapilární krev se nakape na speciální karty, která se pak suší 2 hodiny ve tmě při pokojové teplotě. Dále se přidá i TCA na vysrážení bílkovin. [28]

2.6 Klinické využití

Doplňky vitamínu B2 mohou předejít očním poruchám jako je například šedý zákal, glaukom a keratokonus. Při užívání očních kapek s riboflavinem dochází ke zpevnění rohovky. Jeho doplňky mohou taky snížit krevní tlak a hladiny homocysteinu, kdy podle výzkumu

snížení této aminokyseliny dochází z 25 % ke snížení rizika ischemické choroby srdeční a cévní mozkové příhody. [29]

Riboflavin má neuro-protektivní účinky u některých neurologických poruch jako je Parkinsonova choroba, migrény nebo roztroušená skleróza. Parkinsonova choroba je neurodegenerativní porucha, která zhoršuje motorické funkce. Ve studii (Coimbra & Junqueira, 2003) byl hlášen, u pacientů s touto chorobou, nižší stav riboflavinu a při podání vysoké dávky 90 mg/den došlo ke zlepšení motorických funkcí. Není přesně znám mechanismus jeho neuroprotektivního účinku, ale částečně ho lze vysvětlit jeho antioxidačními účinky. Roztroušená skleróza (RS) je autoimunitní onemocnění, při kterém je poškozena myelinová pochva nervových buněk v mozku a míše. Ve studiích (Ghadirian et al., 1998; Akhoondan et al., 2014 a Behrooz et al., 2014) zjistili, že vyšší příjem riboflavinu je spjat s nižším rizikem rozvoje této nemoci. Homocystein hraje roli v patogenezi RS a jak už bylo řečeno, riboflavin ovlivňuje hladinu této aminokyseliny a tím chrání před rizikem rozvoje RS. Dalším možným mechanismem je role riboflavinu v metabolismu esenciálních mastných kyselin a tvorbě myelinu. [18]

Je prokázáno, že při migrénách hraje roli mitochondriální dysfunkce, která vede k nedostatečnému metabolismu kyslíku a ke změnám v metabolismu mitochondriální energie. A proto vyšší dávky vitamínu B2 mohou pomoci při profylaxi migrény. Měl by se užívat každý den a pro lepší výsledky je nutné užívat riboflavin minimálně tři měsíce, kdy doporučená dávka proti migrénám u dospělých je 400 mg denně. [29, 30]

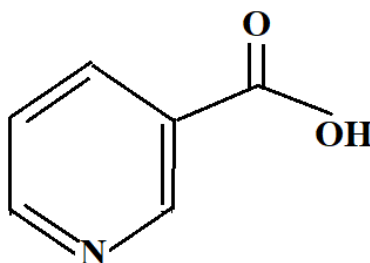
3. Vitamín B3

3.1 Historie

Na počátku 20. století se v USA stala pelagra epidemií v některých jižních státech kvůli nedostatečné stravě. V roce 1937 Elvehjem a Koehn izolovali kyselinu nikotinovou z jaterního extraktu a zjistili, že zabraňuje onemocnění černého jazyka, kdy se jedná o formu pelagry u psů. Tento objev položil základy pro další studie, které potvrdily souvislost mezi pelagrou u lidí a nedostatkem niacinu. Kyselina nikotinová je nejstarší známé léčivo, které modifikuje lipidy v séru. [31, 32]

3.2 Popis a funkce

Vitamín B3 neboli niacin je známý taky jako kyselina nikotinová nebo nikotinamid. (Obrázek 5) Niacin je v lidském těle přeměněn na nikotinamidadenindinukleotid (NAD). Fosforylací NAD, vzniká nikotinamidadenindinukleotidfosfát (NADP). NAD i NADP jsou aktivní formou vitamínu B3, po jejich redukcí se zúčastní katabolických redoxních reakcí a jsou kofaktory anabolických redoxních reakcí. [33] NAD se podílí na glykolýze a katabolismu bílkovin a alkoholu. NADP působí jako akceptor vodíku v řetězci transportu elektronů a je součástí syntézy cholesterolu a mastných kyselin. Obě sloučeniny jsou důležité pro oxidativní fosforylací a regulaci DNA. [34]



Obrázek 5 CHEMICKÝ VZOREC VITAMÍNU B3. Převzato a upraveno z [35]

Niacin je metabolizován na kyselinu nikotinurovou konjugací s glycinem nebo na nikotinamid. Nikotinamid se dále přemění na N1-methylnikotinamid, nikotinamid-N-oxid a poté na pyridinové metabolity. Kdy pyridiny jsou konečnými produkty v metabolismu niacinu u savců. [25]

Niacin je součástí metabolismu lipidů. Tento vitamín je schopen zvýšit degradaci lipoproteinů, které obsahují apolipoprotein B, jako VLDL a LDL částice a to tím, že inhibuje

syntézu triglyceridů. Snížením syntézy triglyceridů v játrech je inhibován diacylglycerol-acyltransferáza 2. Jeho další roli v metabolismu lipidů je zvýšení hladiny HDL-cholesterolu. [33] Vitamín B3 má protizánětlivé vlastnosti tím, že moduluje imunitní buňky a hraje roli při udržování imunologické homeostázy. Inhibuje produkci prozánětlivých cytokinů IL1, IL6 a tumor nekrotizující faktor α , a to díky monocytům a makrofágům. [36] Niacin není pouze součástí metabolismu lipidů, ale také i sacharidů a bílkovin. [37]

3.3 Výskyt a dávkování

Vitamín B3 můžeme přijímat v potravě. Potraviny jako ryby a maso obsahují nikotinamid, kdy při zpracování masa NAD a NADP mohou být hydrolyzované na volný nikotinamid. Rostlinné potraviny jako fazole obsahují kyselinu nikotinovou. Niacin se může také vyskytovat v obilovinách nebo v menším množství v kávě, čaji a ořechách. Savci jsou schopni, tento vitamín jako jediný ze skupiny B, vytvářet v játrech endogenní enzymatickou cestou z tryptofanu. [36, 37]

Doporučená denní dávka vitamínu B3 se u dětí zvyšuje postupně podle věkových skupin, kdy u batolat je 6 mg a u dospívajících je 12 mg. U dospělých mužů je tato dávka kolem 16 mg/den a u žen 14 mg/den. Jak už bylo řečeno, malá část NAD je tvořena z esenciální aminokyseliny tryptofanu, aby k tomu došlo, je potřeba 60 mg tryptofanu pro syntézu 1 mg niacinu. [32]

3.4 Nedostatek a nadbytek

Při nedostatku niacinu dochází ke snížení NAD a NADP koenzymů a jejich nedostatek inhibuje opravu poškozených buněk a ovlivňuje tkáň s vysokým buněčným obrátem jako je mozek, kůže nebo gastrointestinální trakt. [34] K tomuto stavu může docházet v zemích s omezeným zdrojem. Zhoršená absorpce niacinu v tenkém střevě může být způsobena chronickým průjmem, zánětlivým onemocněním střeva nebo malignitou. K nedostatku může taky dojít při změně metabolismu tryptofanu, zhoršené absorpci tryptofanu a při dlouhodobém užívání některých léků může dojít ke snížení produkci tryptofanu nebo inhibovat přeměnu tryptofanu na niacin. Nadměrný a chronický příjem alkoholu může způsobit snížení absorpce niacinu, ale také i může narušit přeměnu tryptofanu na niacin. Nedostatek vitamínu B3 v těle vede k onemocnění zvané pelagra.

Při vyšších hladinách niacinu jako například 3000 mg/den může dojít k nežádoucím účinkům jako zrudnutí, žloutenka, zhoršení zraku, břišní diskomfort a dlouhodobá vyšší hladina může způsobit hepatotoxicitu. [37]

V nedávných studiích bylo zjištěno, že pacienti se schizofrenií měli snížený poměr NAD/NADH ve srovnání se zdravou skupinou. Podle studií schizofrenie je spojena s redoxní nerovnováhou v mozku. Demence při pelagře je podobná schizofrenii, ale pacienti se schizofrenií se celkově nezlepšují po doplnění niacinu. [32]

3.4.1 Pelagra

Toto onemocnění je způsobeno nedostatkem niacinu nebo tryptofanu. Projevy této nemoci jsou dermatitida, demence a průjem. Na počátku této nemoci se mohou projevit neurologické příznaky jako je úzkost, špatná koncentrace, únava, deprese a s postupem nemoci nastane demence. Mohou být také přítomné gastrointestinální komplikace, stomatitida, nevolnost, zvracení nebo zácpa. [37] Vyrážka se obvykle objevuje na místech, které jsou vystavené na slunci jako erytém a následovně přechází do kožovitých hyperpigmentových plaků. Může se vytvořit límcový pás kolem krků jako takzvaný Casalův náhrdelník. [34] Jestli dojde k diagnóze a následovně k léčbě, prognóza pacienta je dobrá. Pokud se pelagra neléčí, bude se stav pacienta zhoršovat až nakonec dojde ke smrti. K úmrtí může dojít během 4 až 5 let. [37]

3.5 Vyšetření

Pro zjištění stavu niacinu v těle je možno stanovit NAD v červených krvinkách. Někdy je i možno použít poměr NAD k NADP, zvané jako niacinové číslo, kdy i při nedostatku niacinu je NADP v krvi relativně stabilní. [32] Pro stanovení nedávného příjmu niacinu a jeho stavu lze změřit jeho metabolity v moči jako N-methylnikotinamid a také niacin a jeho metabolity v lidské plazmě pomocí LC-MS/MS. [25, 32]

Mezi spolehlivé biomarkery stavu niacinu se považuje N-methylnikotinamid v moči sbírané 24 hodin, kdy NAD je katabolizován metylací nikotinamidu na N-methylnikotinamid v játrech. Referenční hodnota koncentrace N-methylnikotinamidu v moči je 17,3-115 $\mu\text{mol}/\text{den}$. Tuto hodnotu získáme vynásobením koncentrace N-nikotinamidu ($\mu\text{mol}/\text{l}$) celkovým objemem moči vypočítaným z hmotnosti (l/den). [38]

Díky LC-MS/MS lze stanovit jak N-methylnikotinamid v moči tak také niacin, nikotinamid, kyselinu nikotinurovou a pyridinové metabolity v lidské plazmě. Kdy krev je odebrána do zkumavek s di-draselnou soli EDTA. [25]

3.6 Klinické využití

Niacin byl studován jako potenciální léčba migrény. Niacin zlepšuje mitochondriální energetický metabolismus snížením koncentrace kyseliny mléčné, také zvyšuje průtok krve a okysličování do kosterních svalů a předchází bolestem tenzního typu. Vitamín B3 je schopen zvýšit hladinu serotoninu v plazmě, kdy jeho nízká hladina souvisí s patogenezi migrény. Rozšířením intrakraniálních cév a následnými kontrakcemi extrakraniálních cév dochází k zabránění rozvoji migrény při podání niacinu intravenózně a perorálně. [30]

Niacin byl prvním hypolipidemickým lékem, který významně snižoval kardiovaskulární klinické příhody a úmrtnost u pacientů s kardiovaskulárním onemocněním. Podávání niacinu ve farmakologických dávkách může zabránit před infarktem myokardu, aterosklerózou a mozkovou mrtvicí. Předpokládá se, že tyto účinky jsou zprostředkovány změnami složení lipoproteinů. Zvyšuje se hladina HDL cholesterol a hladina LDL se snižuje. [32]

Při pelagře, tudíž při nedostatku niacinu by se měly podávat perorální dávky nikotinamidu 250 až 500 g/den. Přestože kyselina nikotinová je běžnější formou vitamínu B3, při nedostatku se podává nikotinamid, protože nezpůsobuje nechtěné příznaky jako brnění nebo svědění. [37]

Některé studie prokázaly, že kyselina nikotinová je prospěšná pro některé patologické stavy jako diabetes typu 2, obezita, hyperalgezie, poranění plic a ledvin. Kdy má protizánětlivé, antioxidantní a antiapoptické účinky v různých buňkách a tkáních. Nikotinamid ve vysokých dávkách může také vykonávat specifické farmakologické aktivity, které souvisejí s léčbou rakoviny, kdy senzibilizuje nádor na záření nebo chemoterapii. [39]

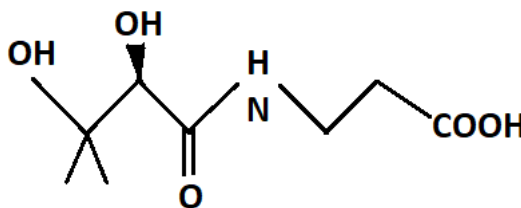
4. Vitamín B5

4.1 Historie

Vitamín B5 byl poprvé extrahován a izolován z jater v roce 1938, později v roce 1940 byl syntetizován. Vitamín B5 je nazýván také jako kyselina pantothenová, kdy slovo „Panthos“ je řeckého původu a znamená „nachází se všude“. [40] Od 50. let minulého století byl účinek kyseliny pantothenové sledován díky profesorovi Ali Gheita, který poukázal na význam tohoto vitamínu při hojení ran.[41]

4.2 Popis a funkce

Vitamín B5 neboli kyselina pantothenová (Obrázek 6) je součástí koenzymu A (CoA). Pantethin je považován za neaktivnější formu vitamínu B5. Jedná se o disulfidovou formu kyseliny pantothenové a obsahuje sulfhydrolovou skupinu potřebnou pro biologické aktivity.[40] Účinek vitamínu B5 je řízen enzymem pantetheinázou, který hydrolyzuje pantethein a v lidském séru také působí na pantothenamidy.[41]



Obrázek 6 CHEMICKÝ VZOREC VITAMÍNU B5. Převzato a upraveno z [42]

Vitamín B5 se nachází ve vysokých koncentracích jako CoA nebo fosfopantethein v potravinách. CoA a fosfopantethein se přemění na volnou kyselinu pantothenovou díky enzymům jako je fosfatáza nebo pantetheináza v tenkém střevě. Volná kyselina pantothenová je poté absorbována multivitaminovým transportérem závislým na sodíku v tenkém střevě a uvolňuje se do krve. Nakonec dojde znovu k přeměně kyseliny pantothenové na CoA a je distribuován v těle, především v játrech a ledvinách.[36]

CoA je důležitý pro mnoho biochemických reakcí jako syntéza mastných kyselin, cholesterolu, sacharidů, neurotransmiteru acetylcholinu, steroidních hormonů a melaninu. CoA hraje také důležitou roli při acylaci proteinů, při úpravě jejich strukturních konformací a funkcích. Acylace proteinů je důležitá pro dělení buněk, replikaci DNA, genovou expresi, opravu buněk a tkání.[40]

4.3 Výskyt a dávkování

Kyselinu pantothenovou je třeba získat z potravy a vyskytuje se téměř ve všech potravinách. Nejlepším zdrojem je avokádo, jogurt, celozrnné výrobky, houby, vejce, luštěniny a zelenina jako je brokolice nebo květák. Zdrojem tohoto vitamínu bývají také arašídy, mandle, játra, ledviny a sýr. Kyselina pantothenová je však relativně nestabilní, při moderních úpravách rafinace, vaření, zmrazování nebo konzervování potravy dochází ke ztrátě kyseliny pantothenové. [31, 40]

Průměrná denní dávka vitamínu B5 by měla být kolem 5-6 mg/den u dospělého člověka. U novorozenců a dětí je tato dávka nižší, 1,7-1,8 mg/den u novorozenců a 2-4 mg/den u dětí. [40]

4.4 Nedostatek a nadbytek

Kyselina pantothenová se vyskytuje téměř ve všech potravinách, proto je nedostatek vzácný. Deficit tohoto vitamínu se může vyskytovat u lidí s těžkou podvýživou. Obvykle při nedostatku vitamínu B5 hrozí i nedostatek jiných živin, proto je problém při identifikaci symptomů, které jsou specifické pro deficit kyseliny pantothenové. Během experimentálních studií zjistili, že příznaky jsou následující: únava, bolest hlavy, malátnost, změny osobnosti, necitlivost, svalové/břišní křeče a zhoršená svalová koordinace. Jedinci s mutací v genu pantotenátkináza 2 mohou mít pravděpodobně také nedostatek kyseliny pantothenové. Při těchto mutacích se snižuje aktivita pantotenátkinázy 2, tím dochází ke snížení přeměny kyseliny pantothenové na CoA. Mutace tohoto genu způsobuje také neurodegeneraci asociovanou s pantotenátkinázou (PKAN).

Vitamín B5 je považován za bezpečný, v současné době není uvedena žádná horní mez. Zatím neexistují žádné zprávy o toxicitě při vysokém příjmu kyseliny pantothenové, ale při podávání tohoto léku mohou být vedlejší účinky jako například bolest svalů, kloubů, hlavy, nevolnost, závrať, zácpa, atd. [43]

4.4.1 PKAN

Jedná se o vzácnou, život ohrožující neurologickou poruchu. Vzniká mutací lidského genu pantotenátkinázy 2. Absence nebo abnormální funkce pantotenátkinázy 2 vede k hromadění železa v mozku, který tvoří zvaný znak „oko tygra“. Doba výskytu klinických příznaků je od dětství do dospělosti, kdy progresse je zpočátku rychlá a pak se zpomaluje. Mezi

příznaky patří porucha řeči, dystonie, špatná rovnováha, svalová rigidita a spasticita. Léčba tohoto onemocnění stále není známa, ale existují neoficiální zprávy, že doplňky vitamínu B5 zmírňují příznaky.[43, 44]

PKAN byl popsán jako klasický nebo atypický. Příznaky u klasického PKAN se obvykle vyvíjejí před 6 lety věku dítěte a většina pacientu skončí na invalidním vozíku. Atypický PKAN se projeví po 10 letech věku, postupuje pomaleji a je méně závažný. Předpokládá se, že klasický PKAN se projevuje kvůli úplné absenci enzymu a atypický kvůli závažnému nedostatku. [44]

4.5 Vyšetření

Jak už bylo řečeno nedostatek tohoto vitamínu je vzácný, což vysvětluje málo analytických metod a studií pro hodnocení stavu kyseliny pantothenové. Krevní plazma se používá pro stanovení stavu těla a moč je měřítkem absorpce kyseliny pantothenové. Ke kvantifikaci dříve sloužily testy, kdy se používaly mikroorganismy závislé na kyselině pantothenové, jako je *Lactobacillus plantarum*. Tyto testy mohou být náchylné k nespecifické interferenci, takže byly vyvinuty specifičtější testy jako je radioimunoanalýzy a enzymové imunisorbentní testy. Také je možné stanovit vitamín B5 pomocí plynové nebo kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií, ale vyžaduje předchozí zpracování vzorku panteteinázou. [25]

4.6 Klinický význam

Pantothenol neboli provitamín B5 je široce používán ve zdravotnictví a kosmetice, je běžnou složkou multivitaminových doplňků, produktů péče o pleť nebo šamponů. Pantothenol byl podáván orálně v dávkách 10-15 g k léčbě lupusu bez významných vedlejších účinků. Bylo také prokázáno, že inhibuje růst různých bakterií in vitro.

Byly popsány účinky vitamínu B5 v medicíně a chirurgii. Vitamín B5 je přítomen v komerčních doplncích jako je kyselina D-pantothenová, dexpanthenol nebo kalcium pantothenát. Například dexpanthenol je vhodný pro terapii ke snížení zátěže diabetického kardiovaskulárního poškození a ke zlepšení funkce srdce, a to regulací rovnováhy oxidantů a antioxidantů. Dále pantethin, což je derivát vitamínu B5, snižuje kardiovaskulární biomarkery u pacientů s rizikem kardiovaskulárních onemocnění.

Určité kombinace vitamínů B, včetně B5, mají pozitivní vliv na lidské keratinocyty a fibroblasty. Vitamíny podporují migraci fibroblastů a indukují proliferaci keratinocytů, což napomáhá procesu hojení. Bylo zjištěno, že suplementace vysokých dávek kyseliny pantothenové rozvíjí hojení chirurgických ran. [41]

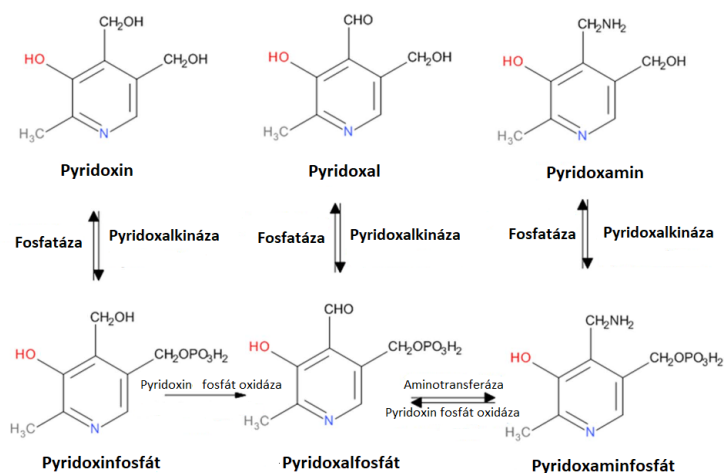
5. Vitamín B6

5.1 Historie

Struktura vitamínu B6 byla zveřejněna poprvé v roce 1932, kdy Sator Ohdake se snažil izolovat vitamín B1 z rýže. Našel vitamín B6, ale v té době nevěděl, že se jedná o další druh vitamínů B. V té době i jiní vědci pracovali na charakterizaci skupiny vitamínů B, hledali takzvaný „faktor prevence krysí pelagry“, který by mohl vyléčit kožní poruchu podobnou pelagře u krys. Paul György popsal vitamín B6 jako aktivní „faktor prevence krysí pelagry“ v kvasinkovém eluátu. V roce 1938 pět skupin vědců spolu s György izolovali krystalický vitamín B6 z kvasinek. O rok později György pojmenoval vitamín B6 jako pyridoxin, díky jeho struktuře, která je podobná pyridinu. Ten stejný rok Stanton A. Harris a Karl Folkers provedli syntézu vitamínu B6. V dalších studiích bylo prokázáno, že vitamín B6 se vyskytuje i v jiných formách. [45]

5.2 Popis a funkce

Chemicky vitamín B6 patří do rodiny 2-methyl-3-hydroxy-5-hydroxymethylpyridinových sloučenin. [31] Vitamín B6 se vyskytuje hned v několika formách jako pyridoxin, pyridoxal a pyridoxamin. (Obrázek 7) Tyto formy jsou prekurzory koenzymů jako je pyridoxalfosfát a pyridoxaminfosfát, které jsou součástí metabolických procesů, například metabolismu aminokyselin, lipidů a sacharidů. [36]



Obrázek 7 METABOLISMUS VITAMÍNU B6. Převzato a upraveno z [46]

Po přijetí stravy, kde je hlavně pyridoxin, pyridoxal a pyridoxamin, dochází k pasivní absorpci v tenkém střevě. Poté se hlavní část vitamínu přeměňuje v játrech na pyridoxalfosfát

a pyridoxaminfosfát. V játrech dochází k oxidaci na kyselinu 4-pyridoxovou, která je hlavním produktem rozkladu vitamínu B6 v moči. Jeho biologický poločas je 15-20 dní. [4, 46] Průměrná zásoba vitamínu B6 se odhaduje na 1000 μmol , kdy většina se nachází ve svalech jako je pyridoxalfosfát vázaný na glykogenfosforylázu. Tato zásoba je relativně stabilní i při stravě s nízkým obsahem vitamínu B6 po dobu 6 týdnů. Pyridoxalfosfát v plazmě je vázaný na albumin a v erytrocytech je vázaný na hemoglobin. Volný pyridoxalfosfát může být defosforylován alkalickou fosfatázou na pyridoxal, který je schopen procházet biologickými membránami. [47]

Vitamín B6 je koenzymem reakcí v lidském těle, jako například transaminační, deaminační a dekarboxylační reakce. Je součástí syntézy aminokyselin, glukoneogeneze, biosyntézy sfingolipidů a neurotransmiterů jako je kyselina gama-aminomáselná, dopamin, serotonin, histamin, tyramin a noradrenalin. Je také důležitý pro metabolismus tryptofanu, syntézu a metylaci DNA. Vitamín B6 má také antioxidační účinky. [4]

5.3 Výskyt a dávkování

Vitamín B6 je získáván z potravin jako je maso, mléčné výrobky, brambory, fazole, ořechy, některé druhy ovoce a zeleniny. Zatímco v rostlinných produktech se vyskytuje především pyridoxin, tak v živočišných produktech je pyridoxalfosfát a pyridoxaminfosfát. [48] V lidském mateřském mléce se vyskytuje především pyridoxal a pyridoxalfosfát. Zpracování potravin jako například zmrazování, vaření nebo dlouhodobé skladování může destabilizovat pyridoxin, a tím dojde ke snížení jeho biologické dostupnosti. [31] Vitamín B6 je také syntetizován mikroflórou v tlustém střevě jako pyridoxalfosfát. Pyridoxalfosfát pocházející z bakterií se v tlustém střevě přeměňuje na volný vitamín B6, který je poté absorbován pasivním transportem, následně transportován do krve a distribuován po celém těle. [36]

Je zapotřebí denní zdroj vitamínu B6, protože lidské tělo není schopno ho ukládat. Doporučená denní dávka pro dospělé je 1-1,7 mg/den. U těhotných žen a během laktace je doporučeno 1,9-2 mg/den. Děti ve věku 1-3 let by měly mít denní dávku vitamínu B6 kolem 0,5 mg/den a u dětí ve věku 3-13 let se doporučuje denní dávka 1 mg/den. Někteří lidé, kteří upřednostňují rostlinou stravu jako jsou například vegetariáni potřebují další doplnění, kdy pyridoxin chlorid je hlavním doplňkem multivitaminů. [49]

5.4 Nedostatek a nadbytek

Nedostatek vitamínu B6 je vzácný a vyskytuje se obvykle při nedostatku ostatních vitamínů skupiny B jako je kyselina listová nebo vitamín B12. Nedostatek je převážně u lidí s chronickou závislostí na alkoholu, s podvýživou proteinové energie a s obézními stavy. Taky se můžeme setkat s nízkou hladinou vitamínu B6 u těhotných žen, u zánětlivých onemocnění střev a po bariatrické operaci. Pacienti s chronickým selháním ledvin a s autoimunitními nemocemi jako je například revmatoidní artritida patří také mezi rizikovou skupinu, kdy mohou mít funkční nedostatek vitamínu B6. Existují také antagonisté léčivých přípravků na vitamín B6, které mohou ovlivnit jeho metabolismus, mezi ně patří isoniazid, penicilamin, levodopa a některé antiepileptika. Nedostatek se může projevit změnami duševního stavu, normocytární anémií, svědivou vyrážkou, glositidou, cheilitidou se šupinatou kůží rtů a prasklinami v koutku. Celosvětově je více než 100 případů záchvatů hlavně u novorozenců, kdy většina těchto případů byla způsobena genetickou mutací v genu pyridoxaminfosfát oxidázy. [49] Kardiovaskulární nemoci a rakovina jsou zvýšeným rizikem při nízkém příjmu vitamínu B6. Ve studiích jak na zvířatech, tak i na lidech bylo prokázáno, že nedostatek ovlivňuje buněčnou imunitu a v menší míře i humorální imunitu. [48]

I přesto, že vitamín B6 je rozpustný ve vodě, tak může mít toxické účinky při nadměrných dávkách. U jedince při běžné stravě bez doplňování stravy je toxicita vitamínu B6 vzácná. K toxicitě vede při dlouhodobém nadměrném příjmu vitamínu B6. Závažnost symptomů záleží na dávce. [49] Obvykle se projevuje jako neurologické příznaky, například parestézie na končetinách nebo potíže s pohybem, kdy tento příznak bývá ve vážných případech. Při dávkách vitamínu B6 nad 1000 mg/den dochází k sensorickým neuropatiím. Jsou záznamy o sensorických neuropatiích také při dávkách méně než 500 mg/den, ale v žádné studii nedošlo k poškození sensorických nervů při dávkách pod 200 mg/den. U pacientů se může taky objevit hyperestézie, svalová slabost, bolesti kloubů, necitlivost a fascikulace. Při jedné studii bylo zjištěno, že neaktivní forma vitamínu B6 (pyridoxin) inhibuje aktivní formu (pyridoxalfosfát), což způsobuje, že příznaky jsou podobné příznakům nedostatku vitamínu B6. Po stanovení diagnózy je potřeba ukončit podávání doplňkového pyridoxinu. [50]

5.4.1 Epilepsie závislá na pyridoxinu

Jedná se o vzácné autozomálně recesivně dědičné metabolické onemocnění. Je to způsobeno mutací v lysinovém degradačním genu ALDH7A1, který kóduje enzym takzvaný

Antiquitin. Ztráta tohoto enzymu vede k patogenní akumulaci lysinových meziproduktů. Vyčerpání pyridoxalfosfátu má za následek záchvaty závislé na pyridoxinu, pravděpodobně kvůli pyridoxalfosfátu, který se podílí na biosyntéze kyseliny gama-aminomáselné, což je hlavní mozkový inhibiční neurotransmitter. Pokud se toto onemocnění neléčí, může vést ke smrti. Dávky pyridoxinu napomáhají k zmírnění opakujících se záchvatů, ale celoživotní suplementace nezabrání neurodevelopmentálnímu postižení u 75 % pacientů s tímto onemocněním. Patří mezi ně lehká až těžká vývojová a kognitivní postižení, například porucha expresivního jazyka. [51]

5.5 Vyšetření

Pro vyšetření stavu vitamínu B6 v lidském těle je možno stanovit koncentraci biomarkerů jako je pyridoxal, pyridoxaminfosfát nebo pyridoxalfosfát v plazmě nebo v erythrocytech. V moči lze stanovit celkový vitamín B6 nebo kyselinu 4-pyridooxovou. V současné době se za nejlepší parametr pro stanovení stavu vitamínu B6 považuje plazmatická koncentrace pyridoxalfosfátu, která koreluje jak s příjmem vitamínu B6, tak s koncentrací tohoto vitamínu ve tkáních. Koncentrace pyridoxalfosfátu, která je menší než 20 nmol/l, je při nedostatku. Hraniční koncentrace je v rozmezí 20-30 nmol/l a koncentrace vyšší než 30 nmol/l je fyziologická. Musíme brát v úvahu, že nízká koncentrace albuminu, zánět nebo vysoká aktivita alkalické fosfatázy může mít negativní dopad na koncentraci pyridoxalfosfátu. [47] Kvůli probíhajícím biologickým procesům různých fyziologických stavů jednotlivých vitamínů, je někdy lepší stanovit poměry mezi úzce souvisejícími metabolity pro lepší přehled o stavu. Například poměr kyseliny 4-pyridooxové a pyridoxalfosfátu spolu s pyridoxalem, který označujeme jako PAr.

Tradiční metody, pro stanovení biomarkerů vitamínu B6 jako je aktivita erythrocytaminotransferázy nebo tryptofan-loading test, se nyní používají méně, a to kvůli problémům se standardizací a praktickým výzvám. V současné době se používá kapalinová a plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií, umožňuje kvantifikaci mnoha aminokyselin a metabolitů souvisejících s dráhami závislými na pyridoxalfosfátu. [25]

5.5.1 PAr

Tento poměr byl navržen na základě analýzy metabolické kontroly a vysokých korelačních koeficientů, kdy se jedná o indikátor katabolismu vitamínu B6. Bylo prokázáno, že PAr je spojen s markery, které představují různé modalities, jako je marker akutní fáze (C-

reaktivní protein) a také markery buněčné imunity (neopterin a poměr kynurenin: tryptofan). Bylo zjištěno, že PAR předpovídal riziko výskytu kolorektálního karcinomu a rakoviny plic, kdy se jedná o rakoviny se známou zánětlivou složkou. Zvýšení tohoto poměru by mohlo odrazet indukci enzymů, které zachytávají aldehyd během oxidačního a aldehydového stresu. [52]

5.5.2 Tryptofan loading-test

Tryptofan je degradován hlavně cestou kynureninu. V játrech je tryptofan oxidován na N-formylkynurenin enzymem tryptofan 2,3-dioxygenázou a v nehepatických tkáních je katalyzován enzymem indolamin 2,3-dioxygenázou. Změny cesty kynureninu mohou být při zánětu, těhotenství, rakoviny, užívání orální antikoncepce. Také při nedostatku vitamínu B6, kdy pyridoxalfosfát je koenzymem bifunkčních enzymů jako je kynurenináza a kynureninaminotransferáza. Vitamín B6 je tedy součástí této dráhy, a proto je možno díky tomuto testu zjistit stav vitamínu B6. [53]

5.6 Klinické využití

Jak už bylo řečeno u vitamínu B1, tak i vitamín B6 má anestetické účinky při léčbě nociceptivní a neuropatické bolesti, a to jak individuálně, tak i spolu s tiaminem a kobalaminem. Kdy tyto vitamíny zmírňují degeneraci nervových buněk. Přímo pyridoxin zlepšuje výživu nervových buněk a syntézu neuromediátorů, tím pomáhá k regeneraci. Pyridoxin vzájemně působí na intra a superspinální receptory endogenních opioidů a stejně tak na neopioidní inhibiční neurotransmitery bolesti, jako je serotonin nebo kyselina gama-aminomáselná. Pyridoxalfosfát napomáhá k přeměně aktivního neurotransmiteru glutamátu na inhibiční neurotransmitter, a to kyselina gama-aminomáselná. Tento vitamín ovlivňuje také vápníkové kanály na povrchu buněk a přispívá k inhibici hyperalgie. [4]

Vitamín B6 je terapeutickou možností pro různé zdravotní stavy jako například protijed při záchvatech z toxicity isoniazidu nebo u těhotných žen při nadměrném zvracení. Je používán jako doplněk stravy, také například u lidí s kardiovaskulárním onemocněním, premenstruačním syndromem, syndromem karpálních tunelů a u deprese, ale někdy dochází k toxicitě, protože si lidé nejsou vědomi, že vysoká dávka vitamínu B6 může být škodlivá. [50]

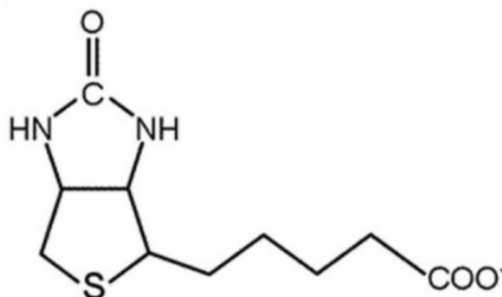
6. Vitamín B7

6.1 Historie

Vitamín B7 neboli také biotin byl objeven v roce 1927, ale trvalo to několik let, než se zjistily jeho role a byl uznán vitamínem. [54]

6.2 Popis a funkce

Vitamín B7, biotin nebo také vitamín H se skládá z tetrahydroimidazolového kruhu kondenzovaného s tetrahydrothiofenovým kruhem a kyselina valerová je připojena k jednomu uhlíku tetrahydrothiofenového kruhu. (Obrázek 8) [55] Vitamín B7 je kofaktorem čtyř karboxyláz, které se vyskytují u savců a vážou na sebe biotinovou část. Tři karboxylázy, jako pyruvátkarboxyláza, methylkrotonyl-CoAkarboxyláza a propionyl-CoAkarboxyláza, jsou mitochondriální. Ten čtvrtý enzym, acetyl-CoAkarboxyláza, se vyskytuje jak v mitochondriích, tak i v cytosolu. Biotin je tedy používán v karboxylačních reakcích závislých na bikarbonátu. [56, 57]



Obrázek 8 CHEMICKÝ VZOREC VITAMÍNU B7. Převzato z [55]

Biotin se přijímá ve stravě jako navázaný na protein, kdy je tato kovalentní vazba zrušena pomocí biotinidázy. Ve střevě v kartáčovém lemu se nachází nosič pro biotin, který ho transportuje proti gradientu koncentrace iontů sodíku. Biotinidáza v plazmě slouží jako transportní protein pro biotin a pomáhá biotinu ke vstupu do buněk. Další nosič připomínající intestinální nosič nejspíše zprostředkuje absorpci jaterními buňkami. Placentární přenos biotinu je zřejmě pasivní. Před vyloučením asi polovina biotinu se přemění na bisnorbiotin a biotinsulfoxid. Poměr biotinu, bisnorbiotinu a biotinsulfoxidu v moči a plazmě je 3:2:1. [56]

Tento vitamín je součástí syntézy mastných kyselin, metabolismu aminokyselin, cyklu kyseliny citronové, ale také má roli v glukoneogenezi a genové expresi. [58] Enzym acetyl-

CoAkarboxyláza se využívá v karboxylaci za vzniku malonyl CoA, který je jako substrát pro prodloužení mastných kyselin. Methylkrotonyl-CoAkarboxyláza slouží k degradaci aminokyselin s rozvětveným řetězcem. Pyruvátkarboxyláza napomáhá při karboxylaci pyruvátu, kdy vzniká oxaloacetát, který se převádí na glukózu v ledvinách, játrech a dalších tkáních. Tyto enzymy jsou degradovány na biocytin nebo krátké oligopeptidy. Takzvaná biotinidáza uvolní biotin z oligopeptidu k znovu použití. [56] Jeho další role je ve zrání a funkcích imunitních buněk, jako například v aktivitě lidských přirozených zabíjácích lymfocytů a ve tvorbě cytotoxických T lymfocytů. [59] Holokarboxyláza syntetáza je enzym, který má důležitou roli v metabolických drahách závislých na biotinu. Katalyzuje vazbu biotinu na všechny čtyři karboxylázy, ale také se podílí na regulaci genů. [57]

6.3 Výskyt a dávkování

Bitotin se váže na bílkoviny ve stravě, můžeme ho najít v játrech, ledvinách a slinivce, ale také i v kvasnicích, mléce a vejcích. Špatný zdroj biotinu je ovoce, zelenina a obilná zrna. [58]

Doporučená denní dávka pro muže a ženy je 30 µg/den a pro těhotné a kojící ženy denní dávka by měla být zvýšená na 35 µg/den. Pro kojence ve věku 0-6 měsíců je dávka kolem 5 µg/den, pro kojence ve věku 7-12 měsíců je to 6 µg/den, pro děti kolem 1-3 roku 8 µg/den. Dále denní dávka pro děti ve věku 4-8 let je 12 µg/den, pro děti ve věku 9-13 let 20 µg/den a pro mladé dospělé 14-18 let 25 µg/den. [57]

6.4 Nedostatek a nadbytek

Nedostatek biotinu může být způsoben při nesprávné stravě, nedostatek biotinidázy, holokarboxyláz syntetázy a transportéru biotinu. Taky může dojít k nedostatku, když jedinec konzumuje velké množství surového vejce, protože protein avidin ve vaječném bílku způsobí snížení biologické dostupnosti biotinu. Mezi rizikové skupiny patří kuřáci a jedinci, kteří užívají antikonvulziva nebo farmakologické dávky kyseliny lipoové. [57] Nedostatek se může taky objevovat u jedinců se zánětlivým onemocněním střev, vrozenými poruchami v metabolismu biotinu, ale také i u chronického alkoholismu. Nedostatek biotinu vede jak k neurologickým poruchám, tak i k dermálním problémům. [59] Příznaky takového nedostatku může být zánět spojivek, periorificiální dermatitida, ataxie, záchvaty, zhoršená imunita, kožní infekce, vyrážky a alopecie. U kojenců může dojít k zpožděnému vývoji. [57] Usuzuje se, že nedostatek biotinu je spojen s imunitními dysfunkcemi, kdy nedostatek mnohočetné

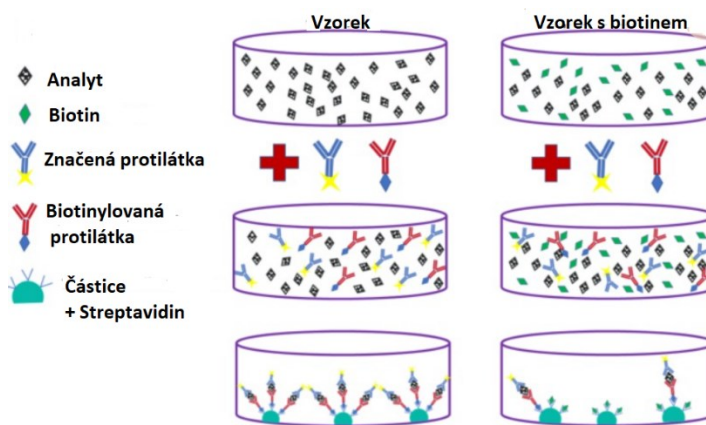
karboxylázy se objevuje u jedinců s poruchami imunity T lymfocytů a B lymfocytů. Také při deficitu vitamínu B7 mohou být zvýšené koncentrace prozánětlivých cytokinů TNF- α a interleukin IL1- β . V jedné studii, přišli na to, že i ve vrozené imunitě při nedostatku dochází ke zvýšení prozánětlivých odpovědi dendritických buněk (TNF- α , IL12, IL23 a IL1- β). [59]

Nebyla daná žádná horní hranice pro příjem biotinu. Lze předpokládat, že toxicita biotinu je velmi nízká, kdy pacienti s problémy deficitu biotinidázy a holokarboxyláz syntetázy jsou léčeni farmakologickými dávkami po celý jejich život. [57]

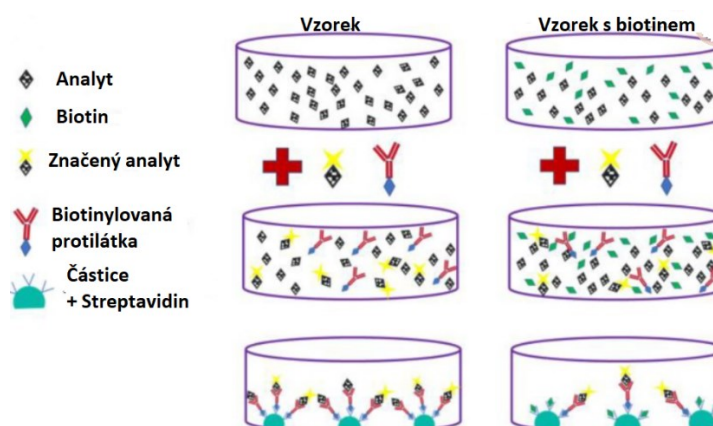
6.5 Vyšetření

Stav biotinu můžeme vyšetřit pomocí mikrobiologických testů, plynové chromatografie, izotopových testů, kolorimetrické a polarografické analýzy. Je možno změřit hladiny biotinu v moči nebo plazmě. Nejčastěji se využívá biotin v moči a kyselina 3-hydroxyisovalerová. Dalšími možnými markery pro stav biotinu jsou karboxylázy v lymfocytech (methylkrotonyl-CoA a propionyl-CoA karboxyláza). Metabolit 3-hydroxyisovalerylkarnitin, který je při snížení aktivity methylkrotonyl-CoA a zhoršené katabolické dráze leucinu, je brán jako potenciální marker při měření stavu biotinu v plazmě pomocí HPLC-MS/MS. [25]

Biotin interferuje s klinickými testy jako je sendvičový test a kompetitivní test. Kdy sendvičový test je používán ke stanovení hladin inzulínu, feritinu, natriuretického peptidu, tyreotropního hormonu. Principem sendvičového testu je použití dvou protilátek, které se vážou na sledovanou látku. Jedna protilátka je navázaná k destičce a na druhou je připojen biotin (proces biotinylace). Poté tam jsou přítomny částice potažené streptavidinem, což je glykoprotein odvozen od bakterii a má schopnost vázat biotin. Tudiž streptavidin je používán v tomto testu pro navázání biotinylovaných protilátek a poté je detekován fluorescenční signál. (Obrázek 9) Vysoké plazmatické hladiny biotinu mohou vést k falešně nižším hladinám analytu. Kompetitivní test se používá pro vyšetření hladin steroidů, kortizolu, volného a celkového T4, volného a celkového T3 a 25-hydroxyvitaminu D. Tento test je založen na vazbě biotinylovaných protilátek s analytem a poté váže streptavidin na povrch destičky. Analyt v tomto testu soutěží s jinou molekulou, která je strukturou podobná analytu, který je značený. (Obrázek 10) Pokud je analyt v nízkých koncentracích, tak protilátky se více vážou na značenou molekulu a signál bude silnější, za to při vyšších koncentracích biotinu na značenou molekulu se bude vázat méně protilátek, a tak signál bude slabší. [54]



Obrázek 9 SENDVIČOVÝ TEST. Převzato a upraveno z [54]



Obrázek 10 KOMPETITIVNÍ TEST. Převzato a upraveno z [54]

Fyziologická hodnota biotinu v séru je 0,05-0,83 ng/ml. Pokud sérová koncentrace biotinu dosáhne 10 ng/ml a vyš, tak biotin může interferovat s některými imunotesty. [60]

6.6 Klinické využití

Biotin se používá jako doplněk stravy k posílení vlasů a nehtů. Je brán jako alternativní doplněk pro zdraví a krásu, kdy se nachází hodně v kosmetických a zdravotnických přípravcích pro vlasy a pokožku. [55] Multivitaminy obsahují biotin normálně kolem 30-300 µg a doplňky pro nehty, vlasy a pokožku mají 5000-10000 µg biotinu. [60]

Vysoké dávky biotinu můžou napomoci v terapii u progresivní RS. K neurologickým postižením u pacientů s touto nemocí dochází při progresivní ztrátě nebo poškození axonů. Kdy ztráta axonů bývá způsobená zánětlivou demyelinací myelinového obalu, a také primární neurodegenerací. Supplementace biotinu může zvýšit produkci myelinu, a to zvýšením produkce energie cyklem trikarboxylové kyseliny v nervových buňkách, také zvýšením tvorby mastných kyselin s dlouhým řetězcem nebo obojím. [61]

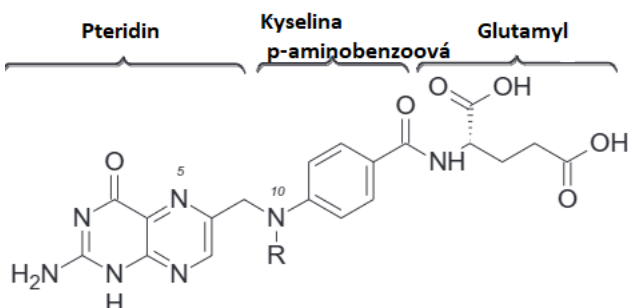
7. Vitamín B9

7.1 Historie

V roce 1941 tento vitamín dostal název kyselina listová, když byl izolován ze špenátu. Bob Stokstad v roce 1943 syntetizoval tuto kyselinu v čisté krystalické formě. [62] Callender v roce 1944 zjistil, že předčasné porody mají souvislost s nedostatkem folátu, tento objev potvrdili Gatenby a Lillie. [63] V roce 1945 brzy po syntéze bylo zjištěno, že tento vitamín je účinný při léčbě megaloblastické anémie. [62] Později v 60. letech Richard Smithells a Elizabeth Hibbard předpokládali, že nedostatečná výživa a nízká hladina vitamínu B9 u těhotných žen může vést ke vzniku poruch neurální trubice. Podle studie dokázali, že suplementace vitamínu B9 během těhotenství pomůže ke snížení recidivě defektů neurální trubice. [63]

7.2 Popis a funkce

Vitamín B9 patří mezi skupinu sloučenin, které mají stejnou biologickou aktivitu jako kyselina listová. V této skupině mají stejnou základní strukturu a liší se jednotkou připojenou k N₅ a N₁₀ pteridinového kruhu, stavem její redukce a počtem glutamylových zbytků, které jsou připojené k části kyseliny p-aminobenzoové. (Obrázek 11) [64]



Obrázek 11 CHEMICKÝ VZOREC VITAMÍNU B9. Převzato a upraveno z [64]

Vitamín B9 se dostává do lidského organismu potravou jako mono- nebo polyglutamát folát. Polyglutamát je hydrolyzován na monoglutamát prostřednictvím enzymu folylpoly- γ -glutamátkarboxypeptidázou, která se nachází na okraji střevního kartáčového lemu. Poté je absorbován v tenkém střevě, kde existují dva transportéry jako protonově vázaný folátový transportér a redukovaný folátový nosič. Před transportem ze střevního epitelu do krve se přemění na tetrahydrofolát, kdy se jedná o aktivní formu vitamínu B9. [36, 65]

Vitamín B9 je důležitý pro biosyntézu nukleových kyselin, metabolismu aminokyselin a uhlíku. Kdy tetrahydrofolát je přeměněn na 5-methylhydrofolát, který je důležitý pro remetylaci homocysteinu na methionin. Tímto cyklem je produkován S-adenosylmethionin, který je používán v methylačních reakcích včetně metabolismu nukleových kyselin a neurotransmiterů. Na syntéze purinů a pyrimidinů se podílejí formy folátu jako 5,10-methylen tetrahydrofolát a 10-formyltetrahydrofolát. [65]

7.3 Výskyt a dávkování

Díky buněčným funkcím vitamínu B9, patří mezi základní mikroživiny v lidské stravě. Vyskytuje se v rostlinách a výborným zdrojem tohoto vitamínu je zelená listová zelenina a některé druhy ovoce. Nízké hladiny folátů jsou v běžných plodinách jako jsou brambory, rýže a kukuřice. Pro zmírnění zdravotních problémů, které souvisí s nedostatkem vitamínu B9, se obohacují základní plodiny. [66] Tetrahydrofoláty a dihydrofoláty patří mezi fyziologické formy vitamínu B9, které mají roli v lidském těle jako enzymové kofaktory a nejsou stabilní. V tom případě dochází k nevratné degradaci při přípravě jídla (vaření), proto se potraviny obohacují kyselinou listovou, je to syntetická a chemicky stabilní forma vitamínu B9. Kyselina listová je biologicky dostupnější v potravinách než fyziologické formy folátu, kdy kyselina listová je z 85 % dostupná a přírodní folát je z 50 % dostupný. [67]

Byla doporučena denní dávka 240 µg/den pro osoby ve věku od 18 let. Pro těhotné a kojící ženy je dávka zvýšena na 340 µg/den. Byla určena i horní hodnota příjmu pro zabránění nepříznivých účinků, a tou je 1000 µg/den. [68]

7.4 Nedostatek a nadbytek

Existují různé příčiny, jak může dojít k nedostatku vitamínu B9. Například při nedostatečném příjmu tohoto vitamínu ve stravě. Další možnosti jsou poruchy tenkého střeva, kde se absorbuje vitamín B9, jako je celiakie, syndrom krátkého střeva, amyloidóza. Může dojít k nedostatku vitamínu B9 při deficitu vrozených enzymů, které jsou důležité pro metabolismus folátu. Pokud dojde k nedostatku vitamínu B12 může vést i k nedostatku vitamínu B9. Různé léky jsou schopné inhibovat absorpci nebo přeměnu folátu na aktivní formu, mezi ně patří fenytyon, methotrexát, sulfasalazin a trimethoprim. Jako i u předešlých vitamínů tak i tady je alkoholismus příčinou pro nedostatek. Další stavy jako je hemolytická anémie, těhotenství a dialýza vedou k deficitu vitamínu B9. Může vést k narušení buněčného dělení, akumulaci toxických metabolitů a narušení methylačních reakcí, které jsou potřebné k regulaci genové

exprese. Příznaky při nedostatku mohou být kognitivní poruchy, deprese, demence, anorexie ale také i bolestivý, mohutný červený jazyk a vředy v ústech. Pokud nedochází k léčbě, tak může dojít k megaloblastické anémii a pancytopenii. [69]

Při vyšších dávkách kyseliny listové může dojít k maskované perniciózní anémii díky nedostatku vitamínu B12, kdy dochází k neurologickým poruchám. [68] Ukázalo se, že nadměrné požívání folátů může mít dvojí roli u kolorektálního karcinomu. Jedna studie zjistila, že folát chrání před rizikem tohoto karcinomu a jiná studie zjistila, že potenciálně podporuje rakovinu. [69]

7.4.1 Poruchy neurální trubice

Tyto poruchy jsou důsledkem abnormální tvorby neurální trubice v první části prenatalního období. Může pak dojít k těžkým celoživotním postižením, psychologické vadě, ale také i k fetálnímu nebo kojeneckému úmrtí. Celosvětově je ovlivněno zhruba 260 000 těhotenství. Po narození je 75 % pravděpodobnost, že dítě umře do 5 let. Už v roce 1965 se zabývalo myšlenkou, že nedostatek folátu u těhotných žen má souvislost s tímto rizikem. Při následujících studiích na toto téma bylo zjištěno, že doplnění kyseliny listové před a během raného těhotenství opravdu pomáhá. Proto na počátku 90. let byla zvýšená doporučená dávka kyseliny listové pro těhotné ženy a také pro ženy, které plánují otěhotnět. [70] Jedná se o vrozené vady jako je spina bifida a anencefalie. Existuje mnoho faktorů pro tyto poruchy, např. genetické nebo environmentální, ale jeden z nejdůležitějších faktorů pro správné uzavření neurální trubice je metabolismus jednoho uhlíku. Metabolismus jednoho uhlíku je zprostředkován právě folátem, který je jako vitaminový kofaktor. [71]

7.5 Vyšetření

První možností je stanovení celkového folátu v séru nebo plazmě, a to stanovením proteinu vázajícího folát. Tento test je sice levný, automatizovaný a rychlý, ale zjišťujeme celkový stav folátu. Biomarker pro lepší zjištění stavu folátu aktivních forem, je folát červených krvinek nebo celkový plazmatický homocystein. Pro měření folátu v séru nebo červených krvinkách je možno použít kapalinovou chromatografii s hmotnostním spektrometrem. [65] Foláty taky lze měřit pomocí HPLC s hmotnostní spektrometrií, fluorescenčních nebo elektrochemických technik, radiotestu a imunotestu. Vitamín B9 a B12 mají úzké biologické vazby, kdy se společně podílejí na metabolismu jednoho uhlíku, mohou se navzájem ovlivňovat, a proto je lepší je měřit oba zároveň. [25]

Byla studie, kdy určovali rozsah koncentrace folátu u zdravých 175 žen (17-42 let) během porodu v různých biologických materiálech, jako je mateřské sérum, plodová voda a pupečnicková krev. Kdy krevní vzorky byly odebrány ze žíly v době porodu a po porodu byla odebrána krev z pupečnicku. Ve zkumavkách nebyly žádné antikoagulační látky, tato krev byla centrifugována 30 minut při 3000 otáčkách/min při 4 °C a poté byly skladovány při -80 °C. Plodová voda byla odebrána transabdominální punkcí během císařského řezu nebo transvaginální punkcí. Tyto vzorky byly také centrifugované při 3000 otáčkách/min při 4 °C, ale po dobu 10 minut. Zmrazeny a skladovány při -80 °C. Folát v těchto vzorcích byl měřen pomocí mikrobiologického testu s mikroorganismem *Lactobacillus casei* a byl analyzován 11 po sobě jdoucích dnů. Bylo zjištěno, že jsou silné vzájemné vztahy mezi všemi typy vzorku. Mezi koncentrací folátu v plodové vodě a mateřského séra byla nejsilnější korelace. Koncentrace v pupečnickové krvi byla nejvyšší, a to $83,5 \pm 30,1$ nmol/l a nejnižší byla v plodové vodě $11,9 \pm 6,8$ nmol/l. Bylo zjištěno, že koncentrace folátu v pupečnickové krvi je proměnlivá na základě gestačního věku a nutričního stavu matky. Pokud žena má nízký stav folátu, tak hladina folátu v plodu je vyšší než v krvi matky, protože dochází k akumulaci folátu v placentě nebo pupeční šňůře a poté je transportován k plodu. [72]

7.6 Klinické využití

Kyselina listová se používá pro obohacování potravin a také v doplňcích, díky své stabilitě vůči oxidační degradaci. Objevuje se v multivitaminových doplňcích a potravinách pro kojence. Kyselina listová představuje asi 40 % celkového množství v mateřském mléce, kdy matky berou prenatální doplňky kyseliny listové. Při transportu kyseliny listové do buňky, se přemění na přirozené redukované formy vitamínu B9. Studie taky poukázaly na to, že významné množství kyseliny listové bylo metabolizováno na tetrahydrofolát v játrech. [67]

Při nedostatku vitamínu B9 se jako léčba využívá doplněk kyseliny listové, kdy obvykle postačuje perorální dávka 1-5 mg/den. Může se stát, že pacienti mají problémy s perorálními léky, a proto se využívá léčba kyselinou listovou intramuskulárně nebo intravenózně. Další možností je jiná forma folátu a tou je kyselina folinová neboli leukovorin, která se používá při toxických účincích methotrexátu. Dlouhodobou léčbu potřebují pacienti se syndromem krátkého střeva nebo malabsorpcí. [69]

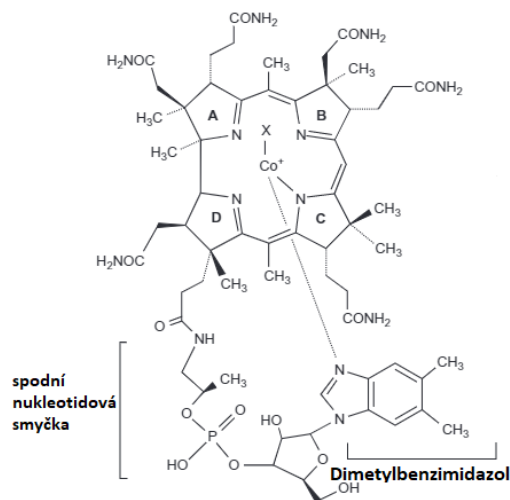
8. Vitamín B12

8.1 Historie

Ve 20. letech 20. století vitamín B12 byl objeven v játrech jako živina nebo vnější faktor díky třem vědcům (Minot, Murphy a Whipple), kteří prokázali, že přidáním jater do stravy lze překonat příznaky perniciózní anémie. Vitamín B12 byl izolován ze vzorku jater po přidání kyanidu a extrakci do organického rozpouštědla. Dorothy Hodgking zjistila strukturu vitamínu B12 pomocí rentgenové krystalografie, kdy odhalila, že vitamínem byl kyanolovaný, amidovaný tetrapyrrol obsahující kobalt. Díky jeho struktuře je vitamín B12 také nazýván jako kyanokobalamin. [73]

8.2 Popis a funkce

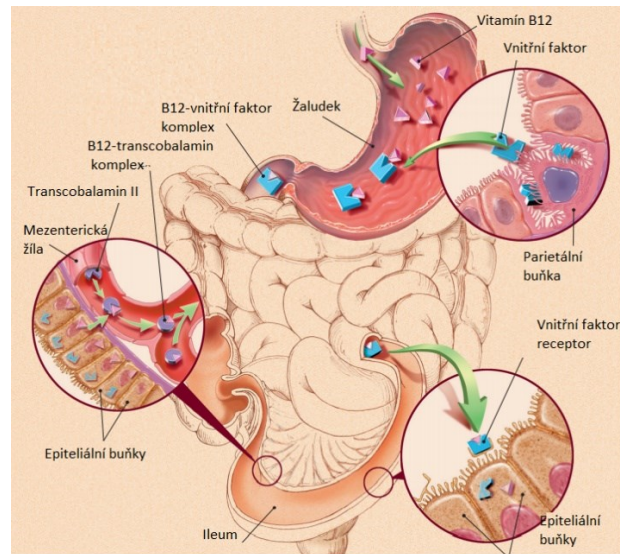
Vitamín B12 neboli kyanokobalamin, také zkráceně kobalamin je tvořen z korinového kruhu, kdy kobalt se nachází ve středu kruhového modifikovaného tetrapyrrolového makrocyklu koordinovaného čtyřmi atomy dusíku pyrrolu. Postranní řetězec spojený s kruhem D makrocyklu spojuje korinův kruh spodní nukleotidovou smyčkou, která obsahuje dimethylbenzimidazol. Dimethylbenzimidazol také koordinuje kobaltový ion. (Obrázek 12) [73]



Obrázek 12 CHEMICKÝ VZOREC VITAMÍNU B12. Převzato a upraveno z [73]

Absorpce a transport vitamínu B12 v lidském těle probíhá díky třem proteinům, a to haptokorinem (dříve transkobalamin I), vnitřním faktorem a transkobalaminem (dříve transkobalamin II). Protein, který má nejvyšší afinitu k vitamínu B12 a nejmenší specifitu, je

haptokorin, ale protein s nejvyšší specifitou a nejnižší afinitou je vnitřní faktor. V kyselém prostředí žaludku se vitamín B12 váže na haptokorin. V duodenu se vitamín B12 váže na vnitřní faktor, když haptokorin je tráven pankreatickými proteázami. V tenkém střevě dochází k absorpci vitamínu B12 prostřednictvím endocytózy. V plazmě je poté vázán na haptokorin (70-90 %) a transkobalamin (10-30 %). Vitamín B12, který se váže na transkobalamin, je přijímán do všech buněk a vitamín B12, který se váže na haptokorin je přijímán pouze játry. (Obrázek 13) Je vylučován žlučí a prochází enterohepatální cirkulací. [74]



Obrázek 13 ABSORPCE A TRANSPORT VITAMÍNU B12. Převzato a upraveno z [75]

Vitamín B12 je potřebný pro erytropoézu, udržení správné funkce nervového systému, metabolismus bílkovin, sacharidů a tuků. [76] Kobalamin má také další důležité metabolické funkce v lidském organismu jako methylkobalamin, který je koenzymem v methylovaní homocysteinu na methionin. Toto je důležitý krok při přeměně folátu na aktivní formy, které se používají jako koenzymy při syntéze thymidinu pro DNA. Další role vitamínu B12 je působení jako koenzym při přeměně L-methylmalonyl CoA na sukcinyl CoA v mitochondriích, při této reakci je přítomna forma kobalaminu, a to 50-deoxyadenosylkobalamin. [74]

8.3 Výskyt a dávkování

Vitamín B12 je zcela získáván z potravy a také syntetizován bakteriemi v tlustém střevě u lidí. Nachází se hlavně v živočišných produktech jako je maso, ryby, vejce, mléko a další mléčné výrobky. Ve vejcích je docela nižší obsah vitamínu B12 (<9 %) než u jiných zdrojů jako je kuřecí maso (61-66 %), ryby (42 %) a ovce (56-89 %). Zato v rostlinných produktech převážně chybí, ale dostupným zdrojem vitamínu B12 s vysokou biologickou dostupností jsou

obohacené cereálie. A také se může nacházet v některých výživných droždích. Vařením může dojít ke snížení obsahu vitamínu B12 v potravinách. [77, 78]

Denní dávka pro dospělé muže a ženy, by měla být 2-4 µg/den. Dietní příspěvek pro dospělé ženy a muže je 2,4 µg/den. U těhotných žen a během kojení ve srovnání s netěhotnou ženou byly denní dávky zvýšené na 2,6 µg/den. Nejsou žádná zvláštní doporučení ohledně denní dávky pro starší lidi i přesto, že malabsorpce a nedostatek vitamínu B12 je u těchto lidí běžné, a proto by měli konzumovat potraviny obohacené vitamínem B12. To platí i pro vegany a vegetariány, kteří by měli také konzumovat například obohacené cereálie nebo doplňky vitamínu B12. Pro pacienty po bariatrické operaci je doporučená denní dávka 1mg denně po neomezenou dobu. [75, 78]

8.4 Nedostatek a nadbytek

Hlavní příčinou nedostatku vitamínu B12 je strava u vegetariánů a veganů. Těhotné a kojící ženy patří mezi rizikovou skupinu kvůli zvýšené metabolické náročnosti. Nejčastější příčinou u starších osob je získaná porucha absorpce vitamínu B12 (malabsorpce kobalaminu vázaná na potravu), kdy je zhoršená schopnost uvolňovat kobalamin z potravy. [74] K nedostatku může dojít i u Crohnové nemoci nebo celiakie. Další možností je i autoimunitní onemocnění, a to perniciózní anémie, kdy se vytvářejí protilátky proti vnitřnímu faktoru. [79] Deficit kobalaminu může ovlivnit více systémů, kdy může vést k mírným až závažným příznakům. Díky skladování vitamínu B12 v játrech může dojít k oddálení klinických projevů o 10 let po nástupu nedostatku. [75] Nedostatek vitamínu B12 rozlišujeme jako klinický a subklinický nedostatek, kdy klinický se vyskytuje u méně než 0,1 % dospělých a 1-2 % u starších osob. Je způsoben závažnou malabsorpcí kvůli selhání vnitřního faktoru nebo ileální malabsorpcí ve více než 95 %. Toto onemocnění vyžaduje lékařskou pomoc. Mezi poruchy klinického nedostatku kobalaminu patří megaloblastická anémie (zapříčiněná narušením syntézy a opravy DNA), neuropsychiatrické projevy (zahrnují periferní a autonomní neuropatie, optická atrofie, změny nálady a chování, subakutní kombinovaná degenerace míchy, psychózy a kognitivní problémy). Subklinický deficit kobalaminu se liší od klinického nedostatku absencí klinických příznaků nebo hematologických abnormalit a minimálními změnami v koncentraci homocysteinu a kyseliny methylmalonové. [74] Nedostatek vitamínu B12 vede k hromadění homocysteinu a folátu jako methyltetrahydrofolátu. To vede k vyčerpání tetrahydrofolátů, které jsou potřebné pro syntézu thymidylátu a purinu, a tím brání buněčné

proliferaci a syntéze bílkovin. Další problémem je, že vede k hromadění methylmalonové kyseliny, která způsobuje acidémii v krvi a moči. [73]

8.4.1 Nedostatek vitamínu B12 u matky a dítěte

Pokud dojde k nedostatku u těhotných žen, zvyšuje se riziko gestačního diabetu a obezity. U embrya může pak docházet ke zpomalení rychlosti růstu, předčasného porodu, zvýšení rizika nízké porodní hmotnosti a defektu neurální trubice. Může se i stát, že stav matky v těhotenství může taky ohrozit zdraví dítěte v pozdějším věku, kdy nízký obsah B12 a vysoký obsah vitamínu B9 jsou rizikovými faktory pro rozvoj obezity a inzulínové rezistence u dítěte.

Mezi počáteční příznaky u kojenců, kteří se vyvíjejí během prvních 4-6 měsíců, patří letargie, potíže s krmením, bledost, pohyby ve formě třesu. Obvykle při vyšetření se zjistí, nejen že kojenec má nízkou hladinu vitamínu B12 spolu se zvýšeným homocysteinem v plazmě a kyselinou methylmalonovou, ale také i anémii s makrocytózou a megaloblastickou kostní dřeví. Na CT nebo MRI se zjistí mozková atrofie a opožděná myelinizace. Nedostatek vitamínu B12 musí být zjištěn a léčen, co nejdříve. Po léčbě se kojenci rychle zotavují, a to během několika měsíců. V pozdějším věku se můžou objevit neurokognitivní příznaky, ale to také závisí na závažnosti nedostatku a opožděné léčbě. [73]

8.4.2 Megaloblastická anémie

Megaloblastická anémie je charakterizována přítomností velkých prekurzorů červených krvinek v kostní dřeví, které nazýváme megaloblasty. Megaloblastická anémie nastává při neúčinné tvorbě červených krvinek a intramedulární hemolýze, když dochází k defektu syntézy DNA. Defekt syntézy DNA vede k narušení dělení jádra, ale cytoplazmatické zrání, které je závislé především na syntéze RNA a proteinů, je méně narušeno. V tomto případě nedochází k současnému zrání jádra a cytoplazmy erytroblastu, a to potom odpovídá velké velikosti megaloblastů. Charakteristickým znakem při megaloblastické anémii je makrocytární anémie, ale taky se může vyskytovat trombocytopenie a leukopenie. Deficit vitamínu B9 nebo vitamínu B12 patří mezi nejčastější příčiny. Další příčiny megaloblastické anémie jsou vrozené poruchy, nedostatek mikroživin a některé léky (antagonisty folátu a chemoterapeutika). [80, 81]

Nejedná se o vzácné onemocnění, vyskytuje se hlavně v zemích, kde převládá podvýživa. Také se vyskytuje u starších lidí a těhotných žen, ale v dnešní době, kdy existuje možnost suplementace vitamínů, se toto onemocnění u těchto rizikových skupin vyskytuje

méně. Příznaky u tohoto onemocnění se vyskytuje hlavně u pacientů s těžkou anémií, jako jsou závratě, slabost, dušnost při fyzické námaze a palpitace. Pokud je tato anémie způsobená nedostatkem vitamínu B12, objevují se neurologické příznaky. Hlavními příznaky jsou parestázie a poruchy rovnováhy. Také se mohou vyskytnout lancinující bolesti dolních končetin, to způsobuje periferní neuropatie. [81]

8.5 Vyšetření

Pro vyšetření vitamínu B12 se používá celkový vitamín B12, který se váže na oba transportní proteiny, jedná se o obecný ukazatel stavu vitamínu B12 v krvi. Vitamín B12, který se váže na transkobalamin, nazýváme jako holo-transkobalamin. Holo-transkobalamin je možné použít jako počáteční test k zjištění stavu kobalaminu. Tyto biomarkery se tedy používají pro laboratorní diagnostiku a funkční testy. [78]

Při podezření na nedostatek vitamínu B12 by se měly udělat laboratorní testy jako krevní obraz s periferním nátěrem a sérovými hladinami B12 a folátu, kdy nedostatek kyseliny listové je někdy zaměňován s nedostatkem kobalaminu. V případě potřeby se udělají testy i na hladinu homocysteinu a kyseliny methylmalonové. Krevní obraz při deficitu ukazuje anémii, která se projevuje snížením hematokritu a hemoglobinu. Dále v nátěru periferní krve by byly přítomny hypersegmentované neutrofilie. Hladina vitamínu B12 je při nedostatku menší než 200 pg/ml a hodnoty 200-300 pg/ml jsou brány jako hraniční. V takovém případě je nutné udělat další enzymatické testy. Stanovuje se homocystein a kyselina methylmalonová, v případě nedostatku kobalaminu je jejich sérová hladina zvýšená. [79]

Pro stanovení vitamínu B12 se používaly mikrobiologické testy (*Lactobacillus delbrueckii*). V současné době jsou testy založeny na vazbě vnitřního faktoru s vitamínem B12 s použitím radiometrického nebo fluorescenčního detektoru. V mnoha klinických laboratořích se používá také metoda, která stanovuje holotranskobalamin. Zjistilo se, že holotranskobalamin je nejspolehlivější marker pro stanovení stavu tkáňového vitamínu B12. [25] Mezi další metody pro stanovení hladiny vitamínu B12 patří chemiluminiscenční test, HPLC, kapilární elektroforéza a další. Tyto všechny metody mají své výhody, ale také i vlastní nevýhody (menší citlivost, časová náročnost, atd.). [82]

8.5.1 Chemiluminiscenční analýza

Většina vitamínu nevyzařuje spontánně světlo, včetně i vitamínu B12, ale je možno využít interakci vitamínů s molekulami emitujícími světlo. Při chemiluminiscenci tedy dochází k emisi světla díky chemickým reakcím. Bylo zjištěno, že vitamín B12 jako katalyzátor zvyšuje tuto reakci mezi luminolem a rozpuštěným kyslíkem nebo luminolem a peroxidem vodíku. Kdy následně kobalt se odstraní z vitamínu B12 při kyselém pH. Tato metoda je schopna měřit analyt na úrovni piktoqramu. [82, 83] Zhang a spol. dokázali, že vitamín B12 je možno stanovit také pomocí chemiluminiscence s dvojitými hydroxidy potaženými dodecylbenzensulfonátem, kdy se měří uvolněný kobalt. Zvyšuje se signál s rostoucí koncentrací vitamínu B12. [83] Specifita u této metody je sice problematická, kvůli interferencím kovových iontů v biologické nebo komplexní matici, ale je dostatečně citlivá. [82]

8.5.2 Radioizotop a hmotnostní spektrometrie

Pro stanovení vitamínu B12 je možno využít radioaktivní izotop vitamínu B12. Dříve se používal radioaktivní izotop ve formě ^{57}Co , v poslední době se používá forma vitamínu B12 obsahující ^{14}C ve spojení s hmotnostní spektrometrií. Hmotnostní spektrometrie je založena na ionizaci vzorku, kdy dojde k vytvoření nabitých fragmentů, ty se pak rozdělí, působením elektrického nebo magnetického pole, podle jejich poměru náboje ku hmotnosti.[83]

8.6 Klinický význam

Při nedostatku vitamínu B12 se podává intramuskulární injekce kyanokobalaminu nebo orálně vitamín B12. Intramuskulární aplikace je doporučena u závažného nedostatku vitamínu B12 a malabsorpce a perorální dávky pro pacienty s asymptomatickým nebo mírným onemocněním. Jsou doporučeny injekce třikrát týdně po dobu dvou týdnů, pokud pacient je bez neurologických příznaků. Pokud pacient má neurologické příznaky, je třeba podávat injekce každý druhý den během tři týdnů nebo dokud nedojde ke zlepšení. Jedna studie ukázala, že perorální dávka vitamínu B12 (1-2 mg/den) měla pozitivní účinky na deficit kobalaminu v lidském organismu. Pokud nedostatek vitamínu B12 se vyskytuje současně s nedostatkem folátu, je potřeba nejdříve léčit deficit B12, aby nedošlo subakutní kombinované degeneraci míchy. [75]

Hydroxykobalamin je jeden z dalších forem vitamínu B12 a je schopen zachytit oxid dusnatý, který se podílí na přenosu bolesti, hyperalgie a zánětu. Hydroxykobalamin má tedy důležitou roli v profylaxi migrény. [30] Jak samotný vitamín B12, tak i spolu s vitamíny B1 a B6 má analgetické účinky. Tyto vitamíny mají důležitou roli ve správném fungování nervových

buněk, kdy kobalamin je důležitý pro remyelinizaci. Pomáhá zvyšovat počet myelinizovaných nervových vláken a Schwannových buněk. Také je součástí syntézy S-adenosylmethioninu a neuromediátorů jako je dopamin, serotonin a noradrenalin. Bylo prokázáno, že při dávkách 1,5 mg/den perorálně nebo 2 mg intramuskulárně vitamínu B12 2x týdně, 50 mg vitamínu B1 a 300 mg perorálně vitamínu B6 jednou denně pomáhá v léčbě u pacientů s neuropatickou bolestí. [4]

9. Vitamíny B v současnosti

9.1 Covid

COVID-19 je způsoben virem SARS-CoV-2, který patří do skupiny koronaviru. Jedná se o jednovláknový obalený RNA virus, který infikuje lidi. Vyskytují se asymptomatické příznaky, mírné infekce horních cest dýchacích, těžké virové pneumonie, syndrom akutní respirační tísně a dokonce i smrt. Toto onemocnění se rozšířilo po celém světě. [84] Zjistilo se během pandemie, že vitamíny jako C a D jsou velmi důležité, ale také i vitamíny skupiny B mají tady svou roli. Jsou důležité pro energetický metabolismus, správné fungování buněk a imunity, kdy pomáhají při aktivaci vrozených a adaptivních imunitních odpovědí. Jsou schopny snížit hladinu prozánětlivých cytokinů, udržují endoteliální integritu, zlepšují funkci dýchání, zabraňují hyperkoagulaci a hlavně takhle můžou zkrátit pobyt v nemocnici.

U této nemoci je potřebné mít v organismu dostatek protilátek a T-lymfocytů, proto je důležité udržovat dostatečnou hladinu vitamínu B1 v organismu. Tiamin napomáhá správné imunitní odpovědi. Podávání vysokých dávek vitamínu B1 na začátku tohoto onemocnění by mohlo pomoci k omezení hypoxie, kdy tiamin je jako inhibitor izoenzymu karboanhydrázy. Bylo zjištěno, že riboflavin a UV záření jsou účinné proti viru MERS-CoV, možná by se tato kombinace mohla použít i proti SARS-CoV-2. Touto kombinací dochází k nevratnému poškození nukleových kyselin, DNA a RNA, a to napomáhá k omezení replikace mikrobiálních patogenů. Došlo ke snížení infekčního titru SARS-CoV-2 pod hranici detekce v lidské krvi. Někteří pacienti reagují na tento virus zvýšenou reakcí T buněk a sekrecí prozánětlivých cytokinů. Záněty během COVID-19 by mohly být kontrolovány pomocí vitamínu B3, který je důležitý pro syntézu NAD a NADP. Tyto koenzymy jsou důležité během chronického systémového zánětu. NAD⁺ je uvolňován v časných fázích zánětu a snižuje tak hladiny prozánětlivých cytokinů (interleukin 1 β , interleukin 6 a tumor nekrotizující faktor α). Tento vitamín je také schopen snížit infiltraci neutrofilů a má protizánětlivý účinek u pacientů s poškozením plic. Tak jako niacin tak i vitamín B5 jako pyridoxal-5-fosfát by mohl utlumit cytokinovou bouři a zánět. Bylo navrženo, že suplementace vitamínu B5 by mohla zmírnit příznaky tohoto onemocnění, a to snížením prozánětlivých cytokinů, prevencí hyperkoagulace a udržováním endoteliální integrity. U dalšího vitamínu, a to vitamínu B9 bylo zjištěno díky strukturně molekulárního dokování, má silné a stabilní vazebné afinity vůči SARS-CoV-2. Je tedy možné kyselinu listovou použít jako terapeutickou možnost k léčbě. Snížení poškození a

příznaků kvůli COVID19 by mohl pomoci vitamín B12, a to doplněk metylkobalaminu. Studie ukázala, že podávání vitamínu B12, vitamínu D a hořčiku pomohlo snížit potřeby kyslíku a podporu intenzivní péče. [85]

9.2 Rakoviny

Rakovina se může objevit i při chronickém zánětu prostřednictvím epigenetické změny, kdy zánětlivé stavy vytvářejí prostředí, které podporuje genomové léze a iniciaci nádoru. V současnosti se řeší, jaké prostředky by mohly tlumit záněty, a tak zabránit rozvoji rakoviny. Crohnova nemoc nebo ulcerózní kolitida, jako zánětlivé onemocnění střev, mají 10krát vyšší pravděpodobnost vzniku kolorektálního karcinomu. Je známo, že vitamíny skupiny B mají svou roli v imunitním systému a jejich nedostatek může vést k rakovinám díky zánětům. Vitamíny B2, B6 a B9 jsou právě z těch velmi důležitých vitamínů pro imunitní systém, díky syntéze DNA, bílkovin, proliferaci buněk a samozřejmě dalším funkcím. Jedna studie ukázala, že nedostatek vitamínu B9 a vysoký homocystein má souvislost s rakovinou plic, ale jsou nutné další studie. Nadměrná suplementace může také mít nepříznivé účinky na imunitní systém, to bylo zjištěno při studii ohledně vitamínu B12, kdy nadměrné doplňování vitamínu B12 může být škodlivé. Poté bylo také zjištěno, že u tohoto vitamínu je trojnásobné riziko rakoviny prostaty. Avšak souhrnná metaanalýza účinků vitamínů B ukázala, že jejich suplementace neovlivňuje vývoj rakovin, proto je třeba se na tento problém více zaměřit a udělat více studií. [86]

Periferní neuropatie způsobena chemoterapií se vyskytuje u 90 % pacientů, kteří postoupili tuto léčbu. Vyvolává senzorickou neuropatii, jako je brnění a necitlivost, ale také i motorické a autonomní změny, ale neuropatická bolest se objevuje zřídka. Příznaky v horní části těla se liší od příznaků dolní části, záleží na jedinci a na typu chemoterapeutika. Stále není známo, jak předejít tomuto vedlejšímu účinku. Jedna z možností je právě komplex vitamínů skupiny B nebo vitamíny jednotlivě, kdy jsou součástí nervového systému jako koenzymy mnoha metabolických cest, jako například syntéza neuronálních membrán a neurotransmiterů. Ukázalo se, že hlavně vitamín B12 má souvislost s periferní neuropatií. Normální nedostatek vitamínu B12 se projeví později, ale bylo prokázáno, že hladina vitamínu u chemoterapie rychle klesá. Může se tedy jednat o hlavní faktor pro rozvoj periferní neuropatie při léčbě neurotoxickými chemoterapeutiky. Také vitamín B3 a B6 ukazují potenciál pro pomoc před tímto vedlejším účinkem. Neexistují žádné důkazy o léčbě, ale za to jsou důkazy, že vitamíny B mohou ovlivnit rozvoj a závažnost periferní neuropatie vyvolané chemoterapií. [87]

Velká část lidstva používá vitamín B12 jako doplněk stravy spolu s kyselinou listovou, bylo však zjištěno, že i nadměrné množství může ohrozit zdraví jedince. Tyto dva vitamíny mají svou roli v metabolismu jednoho uhlíku (metylace a syntéza DNA). Nedávno se věřilo, že vitamín B12 a kyselina listová mají ochranné účinky před rakovinou. Některé studie však ukázaly, že změna v metylaci DNA má vyšší riziko pro rozvoj určitých rakovin, jako rakovina prostaty, prsu a kolorektálního karcinomu. V nedávné studii se dávala kombinovaná suplementace kyseliny listové a vitamínu B12 starším osobám s mírně zvýšenými hladinami homocysteinu. Bylo zjištěno vyšší riziko kolorektálního karcinomu u těchto osob než u osob, kterým bylo přiděleno placebo. Jsou nutná další potvrzení pro souvislost kombinované suplementace vitamínu B9 a B12 s rakovinou tlustého střeva a konečníku. [88]

9.3 Deprese

Deprese je psychologická porucha, která způsobí jak emocionální, tak i fyzické problémy, jako je utrpení, ohromení, pocit bezcennosti, nedostatku důvěry, bolesti svalů a hlavy. [89] Deprese byla spojena s dysfunkcí mechanismů vitamínů B, jako je metabolismus glukózy (důležitý pro buněčnou funkci), oběh folátu a methioninu, funkce mitochondrii a metabolismus jednoho uhlíku (syntéza aminokyselin, mastných kyselin a pyrimidinů). K depresím může nejspíše taky dojít při zvýšení hladiny homocysteinu, a to se stává při nedostatku jakéhokoliv jednoho vitamínu B. Některé vitamíny B hrají roli v cestě tryptofan-kynurenin a bylo nedávno zjištěno, že koncentrace metabolitů tryptofanu a kynureninové cesty byly sníženy při depresích. Několik studií prokázalo souvislost deprese spolu se zánětem, a jak už bylo dříve řečeno vitamíny skupiny B působí na záněty. [90]

V nedávné studii, bylo zjištěno, že vyšší příjem vitamínů skupiny B je spojen s nižší prevalencí psychologických poruch, kdy vitamín B6 se týkal celé populace. Analýzy založené na pohlaví zjistily, že vitamín B12 souvisí s nižší prevalencí úzkosti u mužů a u žen to je vitamín B5. [89]

9.4 Diabetes mellitus

V posledních třech desetiletích prevalence diabetu mellitus typu 2 (T2DM) roste a jedná se o jeden z největších problémů v oblasti veřejného zdraví. Pro jeho léčbu se používají farmakologické látky (inzulín a orální hypoglykemické léky). V současné době se vědci zabývají dalšími možnostmi léčby, a to například vitamínovými doplňky. Jeden z patologických procesů T2DM je oxidační stres, a proto se zaměřuje na antioxidační vitamíny,

kteře by mohly pomoci proti tomuto problému. Dalším problémem jsou zvýšené hladiny homocysteinu, které souvisí s nedostatkem vitamínů B a jsou rizikem diabetických komplikací. Bylo zjištěno, že pacienti s T2DM měli sníženou hladinu vitamínu B1, to může být způsobeno při zvýšeném vylučování tiaminu močí. Tento vitamín může napomoci k oddálení vaskulárních komplikací, a to díky její funkci přeměování glukózy z anaerobní na cestu aerobní. Byla studie se 40 účastníky pro zjištění, zda suplementace tiaminu by mohla zvrátit mikroalbuminurii u T2DM. Jedné skupině podávali placebo a druhé vyšší dávky tiaminu (až do 300 mg/den). Bylo zjištěno, že vitamín B1 by mohl pomoci při terapii diabetické nefropatie v raném stadiu, kdy u léčené skupiny došlo k regresi vylučování albuminu močí. Vitamín B3 je díky svým účinkům schopný snížit LDL cholesterol, a některé studie ukázaly, že tím dokáže snížit riziko kardiovaskulárních nemocí při T2DM. Ale stále nejsou přesvědčivé důkazy pro využití niacinu pro ovlivnění cholesterolu u T2DM. U vitamínu B7 se začaly sledovat účinky v metabolismu sacharidů v léčbě hyperglykémie. V jedné studii hodnotili účinek biotinu, kdy se dal buď biotin nebo placebo a zjistilo se, že byla snížena koncentrace triacylglycerolu a nízká koncentrace cholesterolu, ale nebyl žádný účinek na glukózu. Proto je potřeba udělat více studií. Vitamíny B6, B9 a B12 jsou důležité pro koncentraci homocysteinu v plazmě. V jedné studii řešili snížení rizika cévních příhod u vysoce rizikových populací s cukrovkou a vaskulárními nemocemi. Zjistili, že u denní terapie vitamíny B6, B9 a B12 došlo ke snížení hladiny homocysteinu, tím i ke snížení rizika výskytu mozkové mrtvice. [91]

V těhotenství se taky může vyskytnout diabetes, který nazýváme jako gestační diabetes mellitus (GDM). GDM je diagnostikován hned při první zvýšené koncentraci cukru v krvi. Pokud není léčen správně, mohou se vyskytnout problémy jako preeklampsie, předčasný porod a makrosomie u kojenců. Už proběhlo mnoho výzkumů o makroživinách, a jejich roli v ovlivňování GDM, ale co se týče mikroživin jako vitamíny skupiny B, je o nich stále málo informací. Jedna studie prozkoumávala vitamíny B6, B9, B12 a homocystein s koncentrací glukózy v plazmě v těhotenství a rizikem GDM. Došli k závěru, že při vyšších koncentracích vitamínu B9 byla vyšší postprandiální hladina glukózy, a tedy se jednalo o vyšší riziko GDM. A však hladina glukózy v krvi byla snížena při vyšších koncentracích vitamínu B12, tudíž riziko GDM je nižší. Také zjistili, že kombinace nedostatku vitamínu B12 a vysoké koncentraci folátu způsobí intoleranci glukózy a rezistenci inzulinu, ale mechanismus tohoto procesu není znám. [92]

ZÁVĚR

Cílem této práce bylo poukázat na skutečnost, že všechny vitamíny skupiny B jsou pro lidský organismus nezbytné. Jak samotné vitamíny, tak i jejich formy, jako například tiamin a jeho aktivní forma TDP, jsou součástí různých reakcí, které probíhají v organismu a jsou potřebné pro správné fungování metabolismů jako sacharidů, lipidů, proteinů, atd. Některé vitamíny se navzájem i ovlivňují, jako například vitamín B12 a vitamín B9.

Aby naše tělo správně fungovalo musíme tyto vitamíny nějak získávat, protože tělo není schopné si je samo vytvářet, ale u savců existuje výjimka a tou je vitamín B3. Niacin se může vytvářet v játrech endogenní enzymatickou cestou z tryptofanu. Jak vitamín B3, tak i ostatní vitamíny se vyskytují ve stravě v různém množství. Vitamíny se můžou vyskytovat jak v rostlinné, tak i v živočišné potravě. Potraviny mohou být i obohacené vitamínem, jako vitamín B2 v obilovinách. Jsou různé doporučené denní dávky vitamínů jak pro dospělé, tak i pro děti. Pro kojence bývá důležité mateřské mléko, ve kterém se tyto vitamíny také nachází, proto je důležité, aby kojící ženy přijímaly množství vitamínu podle doporučení.

To, že při nedostatku jednoho nebo více vitamínů dochází k různým onemocněním, napovídá, jak moc jsou důležité. Už v historii se vědci snažili přijít na příčiny různých nemocí, a takto docházelo k objevení těchto vitamínů. Například vitamín B1, kdy jeho nedostatek měl za následek výskyt nemoci beri-beri u námořníků v 19. století. Tyto nemoci z nedostatku vitamínů B se objeví u jedince například při nedostatečné stravě, vrozených vadách, různých poruchách vstřebávání nebo také u alkoholiků. Obvykle je potřeba co nejrychleji diagnostikovat tato onemocnění, jinak může dojít i ke smrti. Normálně stačí nasadit suplementaci určitého vitamínu B a dochází ke zlepšení stavu pacienta, ale to také záleží podle závažnosti nemoci. U některých vitamínů může dojít k vedlejším účinkům při jejich nadbytku. U nadměrné suplementace vitamínu B1 může dojít k alergickým reakcím. V dnešní době se nejvíce používá pro stanovení těchto vitamínů metoda HPLC, poté už záleží na vitamínu, který biomarker sledujeme a v jakém biologickém materiálu.

Tato práce dokazuje, že vitamíny skupiny B jsou velmi používané. Kdy vitamín B1, B6 a B12 mají analgetické účinky a používají se při problémech s migrénou. Vitamíny skupiny B se využívají nejen ve zdravotnictví, ale také i například v kosmetických přípravcích pro vlasy a pokožku, ve kterých se nachází vitamín B7.

Závěr této práce je zaměřen na vitamíny skupiny B v současnosti. Poslední dobou se vědci zabývají otázkami, jestli by bylo možné použít vitamíny skupiny B například při léčbě rakoviny, Covidu19, depresích a diabetu. Bylo zjištěno při některých studiích, že některé vitamíny skupiny B mají pozitivní účinky u těchto problémů, ale stále chybí dostatek informací. A zároveň se také zjistilo, že nadměrné suplementace vitamínů B9 a B12 mohou zvýšit riziko rakoviny. Je zajímavé, že vitamíny skupiny B jsou nezbytné, ale i přesto nadbytek může ohrozit lidské tělo. V takovém případě, je opravdu důležité vědět jaké množství je pro lidské tělo bezpečné.

POUŽITÁ LITERATURA

- [1] MINÁRIKOVA, D. a P. MINÁRIK. Thiamine and benfotiamine. Prevention and pathogenic treatment of the polyneuropathies. *Súč Klin Pr* [online]. 2012, **1**, 37–46 [cit. 2021-03-23]. Dostupné z: <https://www.researchgate.net/publication/287312526>
- [2] PAVLOVIĆ, D. M. Thiamine Deficiency and Benfotiamine Therapy in Brain Diseases. *Am J Biomed Sci & Res* [online]. 2019, **3**(1) [cit. 2021-03-23]. DOI:10.34297/AJBSR.2019.03.000621. ISSN 2642-1747.
- [3] WHITFIELD, K. C., M. W. BOURASSA, B. ADAMOLEKUN, et al. Thiamine deficiency disorders: diagnosis, prevalence, and a roadmap for global control programs. *Annals of the New York Academy of Sciences* [online]. 2018, **1430**(1) [cit. 2021-03-23]. DOI:10.1111/nyas.13919. ISSN 17496632.
- [4] FOLTÁNOVÁ, T. a M. GROFIK. Použitie vysokodávkovaných vitamínov skupiny B v liečbe bolesti. *Súč Klin Pr* [online]. 2018, **1**, 9–14 [cit. 2021-03-05].
- [5] FATTAL-VALEVSKI, A. Thiamine (Vitamin B 1). *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine* [online]. 2011, **16**(1), 12–20 [cit. 2021-03-23]. DOI:10.1177/1533210110392941.
- [6] MARTIN, P. R., Ch. K SINGLETON a S. HILLER-STURMHÖFEL. The Role of Thiamine Deficiency in Alcoholic Brain Disease. *Alcohol Research & Health* [online]. 2003, **27**(2), 135–142 [cit. 2021-03-23]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [7] OSIEZAGHA, K., S. ALI, S. JABEEN, et al. Thiamine Deficiency and Delirium. *Innovations in Clinical Neuroscience*. 2013, **10**(4), 26–32 [cit. 2021-03-23]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [8] FAJFROVÁ, J. a V. PAVLÍK. Vitamíny, jejich funkce a využití. *Medicína pro praxi* [online]. 2013, **10**(2), 81–84 [cit. 2021-03-24]. Dostupné z: www.medicinapropraxi.cz
- [9] WILEY, K. D. a M. GUPTA. Vitamin B1 Thiamine Deficiency (Beriberi). *StatPearls Publishing* [online]. 2020 [cit. 2021-03-24]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [10] LU, J. a E. L. FRANK. Rapid HPLC Measurement of Thiamine and Its Phosphate Esters in Whole Blood. *Clinical Chemistry* [online]. 2008, **54**(5), 901–906 [cit. 2021-03-24]. DOI:10.1373/clinchem.2007.099077.
- [11] KÖRNER, R. W., A. VIERZIG, B. ROTH, et al. Determination of thiamin diphosphate in whole blood samples by high-performance liquid chromatography—A method suitable for pediatric diagnostics. *Journal of Chromatography B* [online]. 2009, **877**(20–21), 1882–1886 [cit. 2021-03-24].

DOI:10.1016/j.jchromb.2009.05.013.

- [12] JONES, K. S., D. A. PARKINGTON, L. J. COX, et al. Erythrocyte transketolase activity coefficient (ETKAC) assay protocol for the assessment of thiamine status. *Annals of the New York Academy of Sciences* [online]. 2020 [cit. 2021-03-24]. DOI:10.1111/nyas.14547. ISSN 0077-8923.
- [13] JENČO, J., L. KUJOVSKÁ KRČMOVÁ, D. SOLICHOVÁ, et al. Recent trends in determination of thiamine and its derivatives in clinical practice. *Journal of Chromatography A* [online]. 2017, **1510**, 1-12 [cit. 2021-03-25]. DOI:10.1016/j.chroma.2017.06.048. ISSN 18733778.
- [14] SOUKALOUN, D., S. J. LEE, K. CHAMBERLAIN, et al. Erythrocyte transketolase activity, markers of cardiac dysfunction and the diagnosis of infantile beriberi. *PLoS Neglected Tropical Diseases* [online]. 2011, **5**(2) [cit. 2021-03-25]. DOI:10.1371/journal.pntd.0000971. ISSN 1935-2735.
- [15] RAJ, V., S. OJHA, F. C. HOWARTH, P. D. BELUR, et al. Therapeutic potential of benfotiamine and its molecular targets. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2018, **22**(10), 3261–3273 [cit. 2021-03-25].
- [16] PINTO, J. T. a J. ZEMPLENI. Riboflavin. *American Society for Nutrition*. [online]. 2016, **7**(5), 973–975 [cit. 2021-03-27]. DOI:10.3945/an.116.012716.
- [17] REVUELTA, J. L., R. LEDESMA-AMARO, P. LOZANO-MARTINEZ, et al. Bioproduction of riboflavin: a bright yellow history. *J Ind Microbiol Biotechnol*. [online]. 2017, **44**(4–5), 659–665 [cit. 2021-03-27]. DOI:10.1007/s10295-016-1842-7.
- [18] SAEDISOMEOLIA, A. a M. ASHOORI. *Riboflavin in Human Health: A Review of Current Evidences* [online]. 2018 [cit. 2021-03-28]. DOI:10.1016/bs.afnr.2017.11.002.
- [19] BALASUBRAMANIAM, S., J. CHRISTODOULOU a S. RAHMAN. Disorders of riboflavin metabolism. *Journal of Inherited Metabolic Disease* [Online]. 2019, **42**(4), 608-619 [cit. 2021-03-28]. DOI:10.1002/jimd.12058. ISSN 15732665.
- [20] POKORNÁ BARTOŠKOVÁ, M., J. RYSOVÁ PINKROVÁ. Simultánní stanovení vitaminů B 1 , B 2 a B 6 metodou kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí *Chemické listy* [online]. 2020, **114**(5), 361-365 [cit. 2021-03-29].
- [21] LIU, S., W. HU, Z. WANG, et al. Production of riboflavin and related cofactors by biotechnological processes. *Microb Cell Fact* [online]. 2020, **19**(31) [cit. 2021-03-29]. DOI:10.1186/s12934-020-01302-7
- [22] MOSEGAARD, S., G. DIPACE, P. BROSS, et al. Riboflavin deficiency—implications for general human health and inborn errors of metabolism.

- International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2020, **21**(11) [cit. 2021-03-31]. DOI:10.3390/ijms21113847. ISSN 14220067.
- [23] WOODCOCK, I. R., M. P. MENEZES, L. COLEMAN, et al. Genetic, Radiologic, and Clinical Variability in Brown-Vialetto-van Laere Syndrome. *Seminars in Pediatric Neurology* [online]. 2018, **26**, 2–9 [cit. 2021-04-02]. DOI:10.1016/j.spen.2017.03.001. ISSN 15580776.
- [24] GAYATHRI, S., V. K. GOWDA, T. UDHAYABANU, et al. Brown–Vialetto–Van Laere and Fazio–Londe syndromes: SLC52A3 mutations with puzzling phenotypes and inheritance. *European Journal of Neurology* [online]. 2021, **28**(3), 945–954 [cit. 2021-04-02]. DOI:10.1111/ene.14682. ISSN 14681331.
- [25] HÖLLER, U., S. J.L. BAKKER, A. DÜSTERLOH, et al. Micronutrient status assessment in humans: Current methods of analysis and future trends. *Trends in Analytical Chemistry* [online]. 2018, **102**, 110-122 [cit. 2021-04-05]. 142. DOI:10.1016/j.trac.2018.02.001. ISSN 18793
- [26] ALJAADI, A. M., R. E. HOW, S. P. LOH, et al. Suboptimal Biochemical Riboflavin Status Is Associated with Lower Hemoglobin and Higher Rates of Anemia in a Sample of Canadian and Malaysian Women of Reproductive Age. *Journal of Nutrition* [online]. 2019, **149**(11), 1952–1959 [cit. 2021-04-05]. DOI:10.1093/jn/nxz151. ISSN 15416100.
- [27] DINIZ, M., N. DIAS, F. ANDRADE, et al. Isotope dilution method for determination of vitamin B2 in human plasma using liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* [online]. 2019, **1113**, 14–19 [cit. 2021-04-05]. DOI:10.1016/j.jchromb.2019.03.001.
- [28] ZHANG, M., H. J. LIU, X. L. HUANG, et al. A novel LC-MS/MS assay for vitamin B 1 , B 2 and B 6 determination in dried blood spots and its application in children. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* [online]. 2019, **1112**, 33–40 [cit. 2021-04-05]. DOI:10.1016/j.jchromb.2019.02.028.
- [29] AAKRITI, B., S. W. BANKS a N. MAHABADI. Riboflavin Deficiency. *StatPearls [Internet]* [online]. 2019 [cit. 2021-04-07]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [30] NATTAGH-ESHTIVANI, E., M. A. SANI, M. DAHRI, et al. The role of nutrients in the pathogenesis and treatment of migraine headaches. *Biomedicine and Pharmacotherapy* [online]. 2018, **102**, 317-325 [cit. 2021-04-07]. DOI:10.1016/j.biopha.2018.03.059. ISSN 19506007.
- [31] CHAWLA, J. a D. KVARNBERG. Hydrosoluble vitamins. *Handbook of Clinical Neurology* [online]. 2014, **120**, 891–914 [cit. 2021-04-08]. DOI:10.1016/B978-0-7020-4087-0.00059-0

- [32] KIRKLAND, J. B. a M. L. MEYER-FICCA. Niacin. *Advances in Food and Nutrition Research* [online], 2018, **83**, 83–149 [cit. 2021-04-14]. DOI:10.1016/bs.afnr.2017.11.003.
- [33] DJADJO, S. a T. BAJAJ. Niacin (Nicotinic Acid). *StatPearls [Internet]* [online]. 2019 [cit. 2021-04-09]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [34] PRABHU, D., R. S. DAWE a K. MPONDA. Pellagra a review exploring causes and mechanisms, including isoniazid-induced pellagra. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine* [online]. 2021, **37**(2), 99–104 [cit. 2021-04-15]. DOI:10.1111/phpp.12659. ISSN 0905-4383.
- [35] GONÇALVES, E. M., C. E.S. BERNARDES, H. P. DIOGO, et al. Energetics and structure of nicotinic acid (Niacin). *Journal of Physical Chemistry B* [online]. 2010, **114**(16), 5475–5485 [cit. 2021-04-15]. DOI:10.1021/jp101490b. ISSN 15205207.
- [36] YOSHII, K., K. HOSOMI, K. SAWANE, et al. Metabolism of dietary and microbial vitamin b family in the regulation of host immunity. *Frontiers in Nutrition*[online]. 2019, **6** [cit. 2021-04-09]. DOI:10.3389/fnut.2019.00048
- [37] REDZIC, S. a V. GUPTA. Niacin Deficiency. *StatPearls [Internet]* [online]. 2020 [cit. 2021-04-14]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [38] DEEN, C. P.J., A. VAN DER VEEN, M. VAN FAASSEN, et al. Urinary Excretion of N1-Methylnicotinamide, as a Biomarker of Niacin Status, and Mortality in Renal Transplant Recipients. *Journal of Clinical Medicine* [online]. 2019, **8**(11), 1948 [cit. 2021-04-21]. DOI:10.3390/jcm8111948. ISSN 2077-0383.
- [39] GASPERI, V., M. SIBILANO, I. SAVINI, et al. Niacin in the central nervous system: An update of biological aspects and clinical applications. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2019, **20**(4) [cit. 2021-04-23]. DOI:10.3390/ijms20040974. ISSN 14220067.
- [40] MEENAKSHI, N. Vitamin B5 - Pantothenic Acid – The Scrutinizer. *The Scrutinizer* [online]. 2016 [cit. 2021-04-25]. Dostupné z: <https://thescrutinizer.org/>
- [41] GHEITA, A. A., T. A. GHEITA a S. A. KENAWY. The potential role of B5: A stitch in time and switch in cytokine. *Phytotherapy Research* [online]. 2019, **34**(2), 306–314 [cit. 2021-05-01]. DOI:10.1002/ptr.6537. ISSN 0951-418X.
- [42] ABIDIN, M. Z., T. SARAVANAN, J. ZHANG, et al. Modular Enzymatic Cascade Synthesis of Vitamin B5 and Its Derivatives. *Chemistry - A European Journal* [online]. 2018, **24**(66), 17434–17438 [cit. 2021-06-09]. DOI:10.1002/chem.201804151. ISSN 15213765.
- [43] SANVICTORES, T. a Sh. CHAUHAN. Vitamin B5 (Pantothenic Acid). *StatPearls [Internet]* [online]. 2021 [cit. 2021-05-05] Dostupné z:

z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>

- [44] KLOPSTOCK, T., F. TRICTA, L. NEUMAYR, et al. Safety and efficacy of deferiprone for pantothenate kinase-associated neurodegeneration: a randomised, double-blind, controlled trial and an open-label extension study. *The Lancet Neurology* [online]. 2019, **18**(7), 631–642 [cit. 2021-05-05]. DOI:10.1016/S1474-4422(19)30142-5. ISSN 14744465.
- [45] MOONEY, S., J. E. LEUENDORF, Ch. HENDRICKSON, et al. Vitamin B6: A long known compound of surprising complexity. *Journal of Chromatography B* [online]. 2009, **14**(1), 329-351 [cit. 2021-05-10]. DOI:10.3390/molecules14010329. ISSN 14203049.
- [46] VROLIJK, M. F., A. OPPERHUIZEN, E. H.J.M. JANSEN, et al. The vitamin B6 paradox: Supplementation with high concentrations of pyridoxine leads to decreased vitamin B6 function. *Toxicology in Vitro* [online]. 2017, **44**, 206–212 [cit. 2021-05-08]. DOI:10.1016/j.tiv.2017.07.009. ISSN 18793177.
- [47] JUNGERT, A., J. LINSEISEN, K.-H. WAGNER et al. Human Nutrition: Review Article Revised D-A-CH Reference Values for the Intake of Vitamin B 6. *Annals of Nutrition and Metabolism* [online]. 2019, **76**, 213–222 [cit. 2021-05-17]. DOI:10.1159/000508618
- [48] UELAND, P. M., A. MCCANN, Ø. MIDTTUN, et al. Inflammation, vitamin B6 and related pathways. *Molecular Aspects of Medicine* [online]. 2017, **53**, 10-27 [cit. 2021-05-13]. DOI:10.1016/j.mam.2016.08.001. ISSN 18729452.
- [49] BROWN, M. J. a K. BEIER. Vitamin B6 Deficiency (Pyridoxine). *StatPearls [Internet]* [online]. 2018 [cit. 2021-05-13]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [50] HEMMINGER, A. a B. K. WILLS. Vitamin B6 Toxicity. *StatPearls [Internet]* [online]. 2020 [cit. 2021-05-17]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [51] PENA, I. A., Y. ROUSSEL, K. DANIEL, et al. Pyridoxine-dependent epilepsy in zebrafish caused by *aldh7a1* deficiency. *Genetics* [online]. 2017, **207**(4), 1501–1518 [cit. 2021-05-17]. DOI:10.1534/genetics.117.300137. ISSN 19432631.
- [52] ULVIK, A., E. R. PEDERSEN, G. F.T. SVINGEN, et al. Vitamin B-6 catabolism and long-term mortality risk in patients with coronary artery disease. *American Journal of Clinical Nutrition* [online]. 2016, **103**(6), 1417–1425 [cit. 2021-05-20]. DOI:10.3945/ajcn.115.126342. ISSN 19383207.
- [53] RIOS-AVILA, L., H. F. NIJHOUT, M. C. REED, et al. A mathematical model of tryptophan metabolism via the kynurenine pathway provides insights into the effects of vitamin B-6 deficiency, tryptophan loading, and induction of tryptophan 2,3-dioxygenase on tryptophan metabolites. *Journal of Nutrition* [online]. 2013, **143**(9), 1509–1519 [cit. 2021-05-20]. DOI:10.3945/jn.113.174599. ISSN 00223166.

- [54] ROSNER, I., E. ROGERS, A. MADDREY, et al. Clinically Significant Lab Errors due to Vitamin B7 (Biotin) Supplementation: A Case Report Following a Recent FDA Warning. *Cureus* [online]. 2019, **11**(8) [cit. 2021-06-07]. DOI:10.7759/cureus.5470. ISSN 2168-8184.
- [55] TRÜEB, R. M. Serum biotin levels in women complaining of hair loss. *International Journal of Trichology* [online]. 2016, **8**(2), 73–77 [cit. 2021-06-07]. DOI:10.4103/0974-7753.188040. ISSN 09749241.
- [56] INSTITUTE OF MEDICINE (US) STANDING COMMITTEE ON THE SCIENTIFIC EVALUATION OF DIETARY REFERENCE INTAKES AND ITS PANEL ON FOLATE, OTHER B VITAMINS, AND CHOLINE. Dietary reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B6, folate, vitamin B12, pantothenic acid, biotin, and choline. *StatPearls [Internet]* [online]. 1998 [cit. 2021-07-07]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [57] ZEMPLÉNI, J. a T. KUROISHI. Biotin. *Advances in Nutrition* [online]. 2012, **3**(2), 213-214 [cit. 2021-07-07]. DOI:10.3945/an.111.001305. ISSN 21618313.
- [58] GIFFORD, J. L., S. M. HOSSEIN SADRZADEH a Ch. NAUGLER. Biotin interference Underrecognized patient safety risk in laboratory testing. *Canadian Family Physician* [online]. 2018, **64**(5), 370 [cit. 2021-07-07].
- [59] AGRAWAL, S., A. AGRAWAL a H. M. SAID. Biotin deficiency enhances the inflammatory response of human dendritic cells. *Am J Physiol Cell Physiol* [online]. 2016, **311**, 386–391 [cit. 2021-07-07]. DOI:10.1152/ajpcell.00141.2016.
- [60] KATZMAN, B. M., A. J. LUEKE, L. J. DONATO, et al. Prevalence of biotin supplement usage in outpatients and plasma biotin concentrations in patients presenting to the emergency department. *Clinical Biochemistry* [online]. 2018, **60**, 11–16 [cit. 2021-07-08]. DOI:10.1016/j.clinbiochem.2018.07.004. ISSN 18732933.
- [61] MOCK, D. M. Biotin: From nutrition to therapeutics. *Journal of Nutrition* [online]. 2017, **147**(8), 1487–1492 [cit. 2021-07-08]. DOI:10.3945/jn.116.238956. ISSN 15416100.
- [62] HOFFBRAND, A. V. a D. G. WEIR. The history of folic acid. *British Journal of Haematology* [online]. 2001, **113**, 579-589 [cit. 2021-06-18]. DOI:10.1046/j.1365-2141.2001.02822.x. ISSN 00071048.
- [63] BARUA, S., S. KUIZON a M. A. JUNAID. Folic acid supplementation in pregnancy and implications in health and disease. *Journal of Biomedical Science* [online]. 2014, **21**. [cit. 2021-06-18]. DOI:10.1186/s12929-014-0077-z
- [64] CAMPOS-GIMÉNEZ, E., S. BÉNET, Y. OGUEY, et al. The contribution of minor folates to the total vitamin B9 content of Infant formula and clinical nutrition products. *Food Chemistry* [online]. 2018, **249**, 91–97 [cit. 2021-06-20]. DOI:10.1016/j.foodchem.2017.12.061. ISSN 18737072.

- [65] POPE, S., R. ARTUCH, S. HEALES, et al. Cerebral folate deficiency: Analytical tests and differential diagnosis. *Journal of Inherited Metabolic Disease* [online]. 2019, **42**(4), 655-672 [cit. 2021-06-20]. DOI:10.1002/jimd.12092. ISSN 15732665.
- [66] ROBINSON, B. R., C. G. SALINAS, P. R. PARRA, et al. Expression levels of the γ -glutamyl hydrolase I gene predict Vitamin B9 content in potato tubers. *Agronomy* [online]. 2019, **9**(11), 734 [cit. 2021-06-23]. DOI:10.3390/agronomy9110734. ISSN 20734395.
- [67] FIELD, M. S. a P. J. STOVER. Safety of folic acid. *Annals of the New York Academy of Sciences* [online]. 2018, **1414**(1), 59–71 [cit. 2021-06-23]. DOI:10.1111/nyas.13499. ISSN 17496632.
- [68] EBARA, S. Nutritional role of folate. *Congenital Anomalies* [online]. 2017, **57**(5), 138-141 [cit. 2021-06-23]. DOI:10.1111/cga.12233. ISSN 17414520.
- [69] KHAN, K. M. a I. JIALAL. Folic Acid (Folate) Deficiency. *StatPearls [Internet]* [online]. 2018 [cit. 2021-06-24]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [70] GARRETT, G. S. a L. B. BAILEY. A public health approach for preventing neural tube defects: folic acid fortification and beyond. *Annals of the New York Academy of Sciences* [online]. 2018, **1414**(1), 47–58 [cit. 2021-06-26]. DOI:10.1111/nyas.13579. ISSN 17496632.
- [71] STEELE, J. W., S. E. KIM a R. H. FINNELL. One-carbon metabolism and folate transporter genes: Do they factor prominently in the genetic etiology of neural tube defects?. *Biochimie* [online]. 2020, **173**, 27-32 [cit. 2021-06-26]. DOI:10.1016/j.biochi.2020.02.005. ISSN 61831638.
- [72] SULIBURSKA, J., R. KOCYŁOWSKI, M. GRZESIAK, et al. Evaluation of folate concentration in amniotic fluid and maternal and umbilical cord blood during labor. *Archives of Medical Science* [online]. 2019, **15**(6), 1425–1432 [cit. 2021-06-26]. DOI:10.5114/aoms.2018.78776. ISSN 18969151.
- [73] SMITH, A. D., M. J. WARREN a Helga REFSUM. Vitamin B12. *Advances in Food and Nutrition Research* [online]. 2018, **83**, 215–279 [cit. 2021-06-23]. DOI:10.1016/bs.afnr.2017.11.005. ISSN 10434526.
- [74] MOLL, R. a B. DAVIS. Iron, vitamin B12 and folate. *Medicine (United Kingdom)* [online]. 2017, **45**(4), 198-203 [cit. 2021-05-22]. DOI:10.1016/j.mpmed.2017.01.007. ISSN 13654357
- [75] LANGAN, R. C. a A. J. GOODBRED. Vitamin B 12 Deficiency: Recognition and Management. *American Academy of Family Physicians* [online]. 2017, **96**(6), 384–389 [cit. 2021-05-24].
- [76] GOMOLLÓN, F., C. J. GARGALLO, J. F. MUÑOZ, et al. Oral cyanocobalamin is effective in the treatment of vitamin B12 deficiency in

- crohn's disease. *Nutrients* [online]. 2017, **9**(3) [cit. 2021-06-12]. DOI:10.3390/nu9030308. ISSN 20726643.
- [77] BOACHIE, J., A. ADAIKALAKOTESWARI, J. SAMAVAT, et al. Low vitamin B12 and lipid metabolism: Evidence from pre-clinical and clinical studies. *Nutrients* [online]. 2020, **12**(7), 1-20 [cit. 2021-05-24]. DOI:10.3390/nu12071925. ISSN 20726643.
- [78] OBEID, R., S. G. HEIL, M. M.A. VERHOEVEN, et al. Vitamin B12 intake from animal foods, biomarkers, and health aspects. *Frontiers in Nutrition* [online]. 2019, **6**, [cit. 2021-05-24]. DOI:10.3389/fnut.2019.00093. ISSN 2296861X.
- [79] ANKAR, A. a S. S. BHIMJI. Vitamin B12 Deficiency (Cobalamin). *StatPearls [Internet]* [online]. 2018 [cit. 2021-06-12]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [80] SOCHA, D. S., S. I. DESOUZA, A. FLAGG, et al. Severe megaloblastic anemia: Vitamin deficiency and other causes. *Cleveland Clinic journal of medicine* [online]. 2020, **87**(3), 153–164 [cit. 2021-06-03]. DOI:10.3949/ccjm.87a.19072. ISSN 19392869.
- [81] HARIZ, A. a P. T. BHATTACHARYA. Megaloblastic Anemia. *StatPearls [Internet]* [online]. 2020 [cit. 2021-06-03]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [82] KUMAR, S. S., R. Singh CHOUHAN a Munna Singh THAKUR. Trends in analysis of vitamin B12 . *Analytical Biochemistry* [online]. 2010, **398**(2), 139-149 [cit. 2021-06-13]. DOI:10.1016/j.ab.2009.06.041. ISSN 10960309.
- [83] TSIMINIS, G., E. P. SCHATNER, J. L. BROOKS, et al. Measuring and tracking vitamin B12: A review of current methods with a focus on optical spectroscopy. *Applied Spectroscopy Reviews* [online]. 2017, **52**(5), 439-455 [cit. 2021-06-13]. DOI:10.1080/05704928.2016.1229325. ISSN 1520569X.
- [84] JOVIC, T. H., S. R. ALI, N. IBRAHIM, et al. Could Vitamins Help in the Fight Against COVID-19. *Nutrients* [online]. 2020, **12**(9) [cit. 2021-06-30]. DOI:10.3390/nu12092550
- [85] SHAKOOR, H., J. FEEHAN, K. MIKKELSEN, et al. Be well: A potential role for vitamin B in COVID-19. *Maturitas* [online]. 2021, **144**, 108–111 [cit. 2021-06-30]. DOI: 10.1016/j.maturitas.2020.08.007
- [86] MIKKELSEN, K., M. D. PRAKASH, N. KUOL, et al. Anti-tumor effects of vitamin B2, B6 and B9 in promonocytic lymphoma cells. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2019, **20**(15) [cit. 2021-07-01]. DOI: 10.3390/ijms20153763. ISSN 14220067.
- [87] SCHLOSS, J. a M. COLOSIMO. B Vitamin Complex and Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Current Oncology Reports* [online]. 2017, **19**

[cit. 2021-07-02]. DOI:10.1007/s11912-017-0636-z.

- [88] ARAGHI, S. O., J. C. KIEFTE-DE JONG, S. C. VAN DIJK, et al. 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 Epidemiology Biomarkers and Prevention* [online]. 2019, **28**(2), 275–282 [cit. 2021-07-02]. DOI:10.1158/1055-9965.EPI-17-1198. ISSN 10559965.
- [89] MAHDAVIFAR, B., M. HOSSEINZADEH, A. SALEHI-ABARGOUEI, et al. Dietary intake of B vitamins and their association with depression, anxiety, and stress symptoms: A cross-sectional, population-based survey. *Journal of Affective Disorders* [online]. 2021, **288**, 92–98 [cit. 2021-07-02]. DOI:10.1016/j.jad.2021.03.055. ISSN 15732517.
- [90] RYAN, K. M., K. A. ALLERS, A. HARKIN, et al. Blood plasma B vitamins in depression and the therapeutic response to electroconvulsive therapy. *Brain, Behavior, & Immunity - Health* [online]. 2020, **4** [cit. 2021-07-02]. DOI:10.1016/j.bbih.2020.100063. ISSN 26663546.
- [91] YAN, M. K. W. a H. KHALIL. Vitamin supplements in type 2 diabetes mellitus management: A review. *Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews* [online]. 2017, **11** [cit. 2021-07-02]. DOI:10.1016/j.dsx.2017.04.009. ISSN 18780334.
- [92] LAI, J. S., W. W. PANG, S. CAI, Y. S. LEE, et al. High folate and low vitamin B12 status during pregnancy is associated with gestational diabetes mellitus. *Clinical Nutrition* [online]. 2018, **37**(3), 940–947 [cit. 2021-07-02]. DOI:10.1016/j.clnu.2017.03.022. ISSN 15321983.