

Uloga vitamina B9 u prevenciji bolesti

Orlić, Petra

Master's thesis / Diplomski rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:545333>

Rights / Prava: [In copyright](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2021-12-04**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Petra Orlić

Uloga vitamina B₉ u prevenciji bolesti

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2017.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Petra Orlić

Uloga vitamina B₉ u prevenciji bolesti

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2017.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Katedri za zdravstvenu ekologiju, medicinu rada i sporta Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom izv.prof.dr.sc. Jasne Pucarini-Cvetković te je predan na ocjenu u akademskoj godini 2016/2017.

POPIS KRATICA

CDC- *Center for disease control and prevention* (Centar za prevenciju i kontrolu bolesti)

DNA- deoksiribonukleinska kiselina

DNC- defekti neuralne cijevi

dTM- deoksitimidin-monofosfat

dTTP- deoksitimidin-trifosfat

HIV- *Human immunodeficiency virus* (virus humane imunodeficijencije)

KVB- kardiovaskularne bolesti

PSA- prostata specifični antigen

RDA- *Recommended Daily Allowance* (preporučene dnevne količine)

RNA- ribonukleinska kiselina

SAM- S-adenozilmetionin

SSRI- *selective serotonin reuptake inhibitors* (selektivni inhibitori ponovnog unosa serotonina)

TFPI- *Tissue factor pathway inhibitor* (tkivni faktor za inhibiciju puteva)

THF- tetrahidrofolati

WHO- *World Health Organization* (Svjetska zdravstvena organizacija, SZO)

SADRŽAJ

1. Sažetak.....	1
2. Summary.....	2
3. Uvod.....	3
4. Metabolizam vitamina B ₉	4
5. Deficit vitamina B ₉	5
6. Uloga vitamina B ₉ u prevenciji bolesti.....	7
6.1. Defekti neuralne cijevi.....	7
6.2. Anemija u trudnoći.....	10
6.3. Kardiovaskularne bolesti.....	11
6.4. Kognitivne bolesti.....	13
6.5. Karcinom.....	18
7. Zaključak.....	24
8. Zahvala.....	25
9. Literatura.....	26
10. Životopis.....	34

1. Sažetak

Petra Orlić

Uloga vitamina B₉ u prevenciji bolesti

Vitamin B₉ ili folat spada u skupinu esencijalnih vitamina neophodnih za rast i razvitak organizma. Folatima nazivamo prirodne spojeve u hrani i sintetske pripravke poput folne kiseline. Razlika između ova dva oblika jest u većoj stabilnosti i bioraspoloživosti sintetskih pripravaka. Folati sudjeluju u reakcijama sinteze purina i pirimidina, glavnih sastavnica deoksiribonukleinske kiseline (DNA) te uz to sudjeluju u metabolizmu nekih aminokiselina od kojih je najznačajnija metionin.

Izvor vitamina B₉ je povrće, i to posebice zeleno lisnato povrće, voće, žitarice i iznutrice. Meso nije značajan izvor vitamina B₉. Do deficita vitamina B₉ može doći uslijed nedostatnog unosa hranom, povećanih metaboličkih potreba ili zbog malapsorpcije. Saznanjem da peri i prekonceptijski unos folne kiseline pomaže u sprečavanju defekata neuralne cijevi, ženama generativne dobi i trudnicama preporuča se unos folne kiseline u koncentraciji od 400 mikrograma na dan. Osim prevencije defekata neuralne cijevi, vitamin B₉ također pomaže u sprečavanju anemije u trudnoći.

Uslijed nedostatka vitamina B₉ može doći do megaloblastične anemije, poremećaja u metabolizmu aminokiseline metionina i samim time povišenja međuprodukta - homocisteina. Povišene koncentracije homocisteina dovode do oštećenja endotela krvnih žila te se hiperhomocisteinemija povezuje s povećanom incidencijom koronarne bolesti, infarkta miokarda, periferne arterijske bolesti i cerebrovaskularnog inzulta.

Jedna od mogućih posljedica deficita vitamina B₉ i povišene koncentracije homocisteina jest i oštećenje kognitivnih funkcija. Depresija i Alzheimerova bolest jedne su od najučestalijih posljedica uzrokovanih nedostatkom vitamina B₉.

Deficit vitamina B₉ dovodi se i u vezu s povećanom učestalošću nekih karcinoma poput kolorektalnog karcinoma, karcinoma prostate, ovarija, dojke, pluća, karcinoma pankreasa i melanoma. Zbog pojačane ekspresije folatnih receptora na površini ovih tumorskih stanica postoje strategije kako bi se taj vitamin mogao upotrijebiti u kemoterapiji navedenih tumora.

Ključne riječi: vitamin B₉, trudnoća, kognitivne bolesti, kardiovaskularne bolesti, karcinom, prevencija

2. Summary

Petra Orlić

Role of vitamin B₉ in disease prevention

Vitamin B₉ or folate is one of the vitamins essential for growth and development of the human organism. What we call folates are either natural compounds found in food or synthetic compounds such as folic acid. The difference between these two compounds is in the fact that synthetic compounds are more stable and have a greater bioavailability. Folates are necessary for the synthesis of purine and pyrimidine which make up deoxyribonucleic acid (DNA). They also have a role in amino acid metabolism, the most important amino acid being methionine.

Sources of vitamin B₉ are vegetables, especially green leafy vegetables, fruits, cereals and offal. Meat is not a good source of vitamin B₉. Vitamin B₉ deficiency can occur because of inadequate dietary intake of folate, increased metabolic need for folate or its malabsorption. Knowing that folic acid intake during the preconceptional or periconceptional period helps prevent neural tube defects, it is recommended that women in their generative age as well as pregnant women take 400 micrograms of folic acid per day. Besides preventing neural tube defects, vitamin B₉ helps prevent anemia in pregnancy.

Vitamin B₉ deficiency can cause megaloblastic anemia, a methionine metabolism disorder which results in increased levels of homocysteine. Increased levels of homocysteine can damage vascular endothelial cells. That is why hyperhomocysteinemia is connected with the increased incidence of coronary disease, myocardial infarction, peripheral artery disease and stroke. One of the possible consequences of folate deficiency and an increased level of homocysteine is cognitive impairment. Depression and Alzheimer's disease are among the most common consequences of folate deficiency.

Folate deficiency is also associated with the increased incidence of certain types of cancer such as colorectal cancer, prostate cancer, ovarian cancer, breast cancer, lung cancer, pancreatic cancer and melanoma. Since folate receptors are overexpressed on the surface of cancer cells, there are strategies for using folates in chemotherapy.

Key words: vitamin B₉, pregnancy, cognitive diseases, cardiovascular diseases, cancers, prevention

3. Uvod

Folat ili vitamin B₉ spada u esencijalnu skupinu vitamina neophodnih za rast i razvoj organizma. Naziv folat dolazi od latinske riječi „folium“ što u prijevodu znači list. Folatima se nazivaju derivati pteroinne kiseline koji pokazuju vitaminsku aktivnost kod ljudi. Vitamin B₉ uključuje prirodne spojeve u hrani te sintetski pripravak koji se naziva folna kiselina, a dodaje se u hranu ili se koristi kao suplement (1).

Folna kiselina (pteroilmonoglutaminska kiselina) ima veću stabilnost i bioraspoloživost nego folati koji se prirodno nalaze u namirnicama. Biološki aktivni oblici folata su reducirani metaboliti folne kiseline- tetrahidrofolati (THF). Tetrahidrofolati sudjeluju u reakcijama sinteze purina i pirimidina, glavnih sastojaka deoksiribonukleinske kiseline (DNA). Osim bitne uloge u sintezi nukleinskih kiselina, folati sudjeluju i u metaboličkim putovima nekih aminokiselina. 5-metiltetrahidrofolat (5-metilTHF) donor je metilne skupine u reakciji s homocisteinom (2).

U hrani se folati nalaze u formi reduciranih poliglutamata, međutim ne apsorbiraju se kao takvi, već ga konjugaze iz površine crijevnih epitelnih stanica cijepaju u monoglutamate i diglutamate. Oni se resorbiraju u gornjem jejunumu aktivnim transportom ili ponekad pasivnom difuzijom. Apsorbirani monoglutamat se u crijevnom epitelu reducira i metilira u N⁵-metiltetrahidrofolat (N⁵-metilTHF), koji prelazi u plazmu, a potom i u stanice (3).

Izvori vitamina B₉ u hrani. Dobri izvori vitamina B₉ su zeleno lisnato povrće (brokula, salata, špinat), voće (kivi, limuni, naranče, jagode), mahunarke te žitarice. Meso i mesni proizvodi većinom sadrže malo vitamina B₉, osim iznutrica (jetra) koje su bogat izvor vitamina B₉ (4). Bioraspoloživost folata iz hrane je samo 50%, dok je bioraspoloživost sintetskog oblika folne kiseline čak do 100%, ukoliko se uzima na prazan želudac. Međutim, osim o obliku vitamina B₉, stabilnost i apsorpcija ovog vitamina ovisi i o vrsti, skladištenju, preradi i pripremanju namirnica. Većinom procesi prerade hrane dovode do gubitka vitamina B₉. Duljom termičkom obradom hrane uništava se većina vitamina. Namirnice životinjskog podrijetla gube više vitamina nego namirnice biljnog podrijetla (5).

4. Metabolizam vitamina B₉

Vitamin B₉ u ljudskom je organizmu koenzim koji djeluje kao donor i akceptor ugljičnih jedinica u nizu reakcija vrlo važnih za metabolizam nukleinskih kiselina te aminokiselina (6). Tijekom sinteze DNA tetrahidrofolat (THF) preuzima metilnu (CH₃) skupinu iz prekursora i prelazi u N^{5,10}-metilen-tetrahidrofolat. Taj spoj predaje metilnu (CH₃) skupinu na deoksiuridin-monofosfat (dUMP), koji potom prelazi u deoksitimidin-monofosfat (dTMP). Sam N^{5,10}-metilen-tetrahidrofolat prelazi u dihidrofolat. Dihidrofolat reduktaza katalizira reakciju u kojoj on opet prelazi u tetrahidrofolat, koji je ponovno sposoban vezati jednu metilnu (CH₃) skupinu. Deoksitimidin-monofosfat (dTMP) prelazi u deoksitimidin-trifosfat (dTTP) koji se ugrađuje u DNA.

U sintezi purina kao donor sudjeluje N¹⁰-formil-THF, odnosno, pri konverziji histidina u glutaminsku kiselinu THF preuzima formimino skupinu (7).

Metionin je esencijalna aminokiselina potrebna za sintezu mnogobrojnih proteina, a jedan od njih je i S-adenozil-metionin (SAM), važan metilirajući agens koji sudjeluje u više od stotinu poznatih reakcija metilacije. Metilacija DNA-a, histona i drugih proteina predstavlja važan epigenetički mehanizam kojim okolišni čimbenici utječu na gensku ekspresiju, neovisno o DNA slijedu (8). Da bi se dobio metionin iz homocisteina potreban je enzim metionin sintetaza i vitamin B₁₂ kao kofaktor. Zbog toga manjak ili vitamina B₉ ili vitamina B₁₂ može dovesti do zastoja u sintezi metionina te nagomilavanja homocisteina. Pretpostavlja se da povišena razina homocisteina, odnosno hiperhomocisteinemija, može dovesti do oštećenja tkiva koje se očituje posljedicama na organima kardiovaskularnog i neurološkog organskog sustava. U ljudi postoje dva različita puta metaboliziranja homocisteina. Jedan put je sinteza metionina iz homocisteina uz pomoć vitamina B₉ i vitamina B₁₂, a drugi put pretvara homocistein u aminokiselinu cistein. Za taj put potreban je vitamin B₆. Dakle, količina homocisteina u krvi regulirana je pomoću tri vitamina: B₆, B₉, B₁₂ (7).

Megaloblastična anemija može nastati zbog manjka vitamina B₉ ili vitamina B₁₂. Vitamin B₁₂ koenzim je za metionin sintetazu koja pretvara metil-THF u THF i istodobno homocistein metilira u metionin. Pri deficitu vitamina B₁₂ u serumu se nakuplja metil-THF jer se ne može metabolizirati u aktivni THF. Uz njega se u serumu nakuplja i homocistein. Pri deficitu vitamina B₉ posljedice su iste jer dolazi do nedostatka THF, odnosno metil-THF, koji je kofaktor za sintezu DNA. Tada se također nakuplja metilen-tetrahidrofolat i homocistein u serumu (9).

Značajnu ulogu u dostupnosti vitamina B₉ za sintezu DNA i reakciju remetilacije homocisteina mogu imati i geni koji sudjeluju u metabolizmu vitamina B₉. Enzim N^{5,10}-metilen-tetrahidrofolat-reduktaza (MTHFR) ima ključnu ulogu u sintezi 5-metil-THF-a. Do danas je poznato više od 20-ak mutacija na genu za navedeni enzim. Jedan od funkcionalno najvažnijih polimorfizama N^{5,10}-MTHFR gena je C677T koji nastaje supstitucijom baze citozina u timin u 4. egzonu, uslijed čega dolazi do zamjene aminokiseline alanina u valin (A222V). Ovaj polimorfizam utječe na termolabilnost enzima i reducira njegovu aktivnost za 50 – 60%, što dovodi do smanjenja količine dostupnog 5-metil-THF-a, neadekvatne remetilacije homocisteina te samim time do hiperhomocisteinemije (10). Znanstvena istraživanja pokazuju da je mutacija MTHFR C677T rizični čimbenik za razvoj hiperhomocisteinemije i brojnih poremećaja koji se povezuju s njom kao bolesti krvnih žila, aterosklerozi, karcinome, shizofreniju i epilepsiju te prirodene anomalije. (11, 12). Smatra se da povećanje unosa vitamina B₉ može učinkovito neutralizirati metabolički utjecaj MTHFR C677T polimorfizma (13).

5. Deficit vitamina B₉

Do manjka vitamina B₉ u organizmu može doći zbog više razloga. Jedan od najčešćih razloga je nedostatan unos hranom, dok su ostali uzroci povećane metaboličke potrebe te malapsorpcija. Nedovoljan unos hranom čest je u starijih osoba, alkoholičara, osoba slabijeg socioekonomskog stanja, pacijenata na parenteralnoj prehrani te na kroničnoj hemodijalizi kojom se gube folati. Pojačana metabolička potreba za vitaminom B₉ javlja se tijekom trudnoće, dojenja, kod nedonoščadi, ali i u hemolitičkoj anemiji, brojnim upalnim i malignim bolestima. Do malapsorpcije dolazi zbog abnormalnosti tankog crijeva kao što su celijakija, tropska sprue, upalne bolesti crijeva, kirurška resekcija, sindrom kratkog crijeva te infiltrativne bolesti kao limfom. Mnogi lijekovi kao što su citostatici (metotreksat), antibiotici (trimetoprim), sulfasalazin i antikonvulzivi interferiraju s metabolizmom ili apsorpcijom vitamina B₉. Folati imaju značajnu ulogu u sintezi DNA i metabolizmu homocisteina te je stoga količina bioraspoloživog folata kritična za pravilnu staničnu diobu. Zalihe folata u organizmu relativno su male u odnosu na potrebe. One iznose svega 5-20 miligrama, od čega se polovica nalazi u jetri. Zbog toga, već nekoliko mjeseci nakon njegovog prestanka unosa hranom, dolazi do deficita vitamina B₉ (14). Nedovoljan unos vitamina B₉ dovodi do poremećene proliferacije i morfoloških promjena svih stanica koje se dijele, a to su: stanice hematopoetičkog sustava i epitelnog tkiva (želudac, crijeva, vagina, koža), ali i nekih stanica

živčanog sustava koje se ne dijele. Stanice koštane srži brzo se dijele, a deficit vitamina B₉ dovodi do neadekvatne diobe krvnih stanica te imamo manje stanica, ali su one veće. Taj tip anemije naziva se megaloblastična anemija. Normalan vijek eritrocita je do 4 mjeseca te upravo toliko može proći dok se kod osoba koje imaju manjak vitamina B₉ ne razvije megaloblastična anemija. Zbog anemije se mogu javiti simptomi poput umora, slabosti i kratkoće daha (4). Osim megaloblastične anemije, zbog manjka vitamina B₉ javljaju se i drugi uobičajeni klinički znakovi poput dispneje, suhoće jezika, dijareje, iritacije, zaboravnosti, anoreksije, glositisa i gubitka težine. Osobe u ranim fazama deficita vitamina B₉ ne moraju pokazivati nikakve očite simptome, već im može biti samo povišena razina homocisteina u krvi. Ta hiperhomocisteinemija smatra se faktorom rizika za razvoj ateroskleroze i duboke venske tromboze te se povezuje s povećanom incidencijom koronarne bolesti, infarkta miokarda, periferne arterijske bolesti i cerebrovaskularnog inzulta (15, 16). Također, brojna opažanja upućuju na to da se deficit vitamina B₉ i hiperhomocisteinemija može povezati s perifernom neuropatijom, oštećenjem kognitivnih funkcija i demencijom, a osobito s Alzheimerovom bolesti (17). Simptomi depresije smatraju se najčešćom psihijatrijskom manifestacijom deficita vitamina B₉ (18). Smatra se da nedostatak vitamina B₉ može dovesti i do nekih malignih bolesti, kao što je karcinom kolorektuma, pluća, gušterače, jednjaka, želuca, vrata maternice, jajnika i dojke (19).

Međutim, na temelju iskustava zemalja koje su uvele zakonsku regulativu o obogaćivanju namirnica folatima, uvidjelo se da i preveliki unos folata može imati negativne posljedice. Neke od njih su progresija neoplastičnih novotvorevina, kao na primjer kod aberantne metilacije DNA u kolorektalnom karcinomu (20). Osim procesa karcinogeneze i poremećaji u trudnoći mogu biti uzrokovani kako deficitom, tako i prevelikim unosom folne kiseline. Ukoliko se tijekom trudnoće neracionalno uzimaju suplementi folne kiseline može doći i do ponavljano ranog pobačaja ili do deficita vitamina B₁₂ (21).

Posljednjih 30-ak godina proučavan je odnos između nedostatka folne kiseline i zatvaranja neuralne cijevi tijekom procesa embriogeneze. Zbog uloge folne kiseline u već ranije nabrojenim reakcijama sinteze nukleinskih kiselina i aminokiselina, ona je ključna tijekom embriogeneze. Neuralna cijev struktura je iz koje se razvija mozak i kralježnična moždina pa ukoliko u vrijeme kad se te strukture razvijaju nema dovoljno folne kiseline može doći do ozbiljnih defekata neuralne cijevi. Ti defekti mogu dovesti ili do smrti fetusa ili do dugotrajnih komplikacija tijekom života djeteta. Postoje dokazi da prekonceptijsko i perikonceptijsko uzimanje folata može pomoći spriječiti te defekte (22). Upravo je zbog toga

Centar za kontrolu i prevenciju bolesti, u rujnu 1992. godine, izdao preporuku da sve žene generativne dobi uzimaju 400 mikrograma folne kiseline dnevno (23). Međutim, zbog velikog broja neplaniranih trudnoća dobar dio žena nije slijedio tu preporuku, te je 1998. godine uvedena zakonska regulativa obveze obogaćivanja hrane folnom kiselinom uz željezo, tiamin, riboflavin i niacin koji su se već dodavali u proizvode od žitarica. Taj je primjer slijedila i Kanada. Istraživanja provedena tijekom godina pokazala su da je ta zakonska regulativa rezultirala time da se statistički značajno smanjio broj djece rođene s defektom neuralne cijevi (24).

6. Uloga vitamina B₉ u prevenciji bolesti

6.1. Defekti neuralne cijevi

Pojam defekt neuralne cijevi (DNC) objedinjuje anencefaliju, encefalokelu i spinu bifidu (23).

Neuralna se cijev normalno zatvara do kraja četvrtoga tjedana. Ukoliko ne dođe do pravilnog zatvaranja neuralne cijevi to može dovesti do pobačaja, preranog porođaja ili rođenja djeteta koje će imati doživotne komplikacije (25). Genetski i okolišni faktori ili njihova kombinacija zajedno imaju ulogu u razvoju defekata neuralne cijevi.

Genetski faktori. Teorija metilacije, prema kojoj se problemi metilacije lipida, DNA i proteina pojave tijekom embriogeneze povezuje se s većim rizikom za razvoj defekata neuralne cijevi. Mutacije gena MTHFR C677T u nekim su populacijama povezane s većom učestalošću ovog poremećaja (26).

Okolišni faktori. Nedostatan unos namirnica bogatih vitaminom B₉ (27) i niska razina edukacije majke (28) identificirani su kao faktori za povećan rizik od razvitka defekata neuralne cijevi. Upotreba nekih lijekova, koji interferiraju s metabolizmom vitamina B₉, kao što su antiepileptici, metotreksat, aspirin, sulfasalazin se također pokazala rizičnim faktorom za DNC. Osim navedenog i pušenje, uzimanje velikih doza vitamina A i hipertermija također su negativni čimbenici za razvoj DNC (25). Pretilost, šećerna bolest i hiperlipidemija šest puta povisuju rizik od DNC (29).

Poznato je da prehrana majke može utjecati na fenotip ploda putem epigenetičkih modifikacija koje utječu na ekspresiju gena. Zbog toga je još 1991. godine *Medical Research Council* donio preporuke o uzimanju folne kiseline u perikonceptijskom razdoblju, odnosno

od 4. tjedna prije začeća i tijekom prva tri mjeseca trudnoće, kao mjeru prevencije za defekt neuralne cijevi (30). Ta se preporuka odnosi na sve žene generativne dobi, s obzirom na to da je velik broj trudnoća neplaniran, a adekvatna razina folne kiseline mora biti dostupna već u vrlo ranoj fazi trudnoće. Preporučena je dnevni unos od 400 mikrograma. To je dovoljno je za sniženje rizika kod žena u niskorizičnoj skupini, dok je kod žena koje su već rodile dijete s takvim poremećajem (visokorizična skupina žena) perikonceptijski preporučena dnevna doza od 4 do 5 miligrama te 400 mikrograma cijelo vrijeme bez obzira na trudnoću (23). Osim defekta neuralne cijevi, deficit folne kiseline i folata u trudnoći može sudjelovati u etiologiji sindroma Down (31) i drugih kongenitalnih anomalija, kao što su rascjep usne ili nepca (32).

Temeljem dokaza da folna kiselina može spriječiti defekte neuralne cijevi, javno zdravstveni programi u pojedinim državama dali su preporuku unosa folne kiseline pre i perikonceptijski. Nažalost, pokazalo se da se većina žena ne drži ovih preporuka, a adekvatan unos folata hranom teško je postići (33). U siječnju 1998. godine u SAD-u je zakonski uvedeno obavezno obogaćivanje svih proizvoda od žitarica folnom kiselinom u količini od 140 mikrograma folne kiseline na 100 grama proizvoda. Potrebna razina folne kiseline u obogaćivanju u SAD-u je procijenjena kako bi osigurala dodatnih 100 mikrograma folne kiseline u prosječnoj prehrani (34). Nekoliko mjeseci nakon provođenja ove odluke, došlo je do smanjenja deficijencije vitamina B₉ u američkom društvu, zajedno s nižim stopama hiperhomocisteinemije te također pada u incidenciji defekata neuralne cijevi (35). Također je pokazano da je tih 140 mikrograma dodane folne kiseline na 100 grama proizvoda, umjesto porasta dnevnog unosa za 100 mikrograma, dovelo čak do dvostrukog porasta koncentracije folne kiseline u serumu (34).

U Kanadi je osim smanjenja rizika za DNC jedno istraživanje pokazalo smanjenu prevalenciju prirođenih srčanih grešaka nakon uvođenja obaveznog obogaćivanja namirnica folnom kiselinom (36), dok je u onih trudnica koje su koristile lijekove koji interferiraju s metabolizmom folata nađena povećana incidencija prirođenih srčanih grešaka (37). Međutim, nisu sve studije pokazale takve rezultate. Meta-analiza iz 2010. godine, koju je Cochrane proveo na 5 istraživanja (6105 pacijentica), pokazala je da folna kiselina, sama ili u kombinaciji s vitaminima i mineralima, ima protektivni učinak na nastanak DNC, ali nema jasan učinak na druge urođene anomalije (38). Zemlje članice Europske unije još nemaju jasan zakon o provođenju obogaćivanja hrane folnom kiselinom, već se ono provodi samo u nekim zemljama, na primjer Velikoj Britaniji (39). Ostale se zemlje pravdaju činjenicom da

prevelik unos folne kiseline može povećati rizik za rak debelog crijeva ili može prikriti nedostatak vitamina B₁₂ (40).

U Hrvatskoj još uvijek nema službenih smjernica o načinu uzimanja folne kiseline prije i za vrijeme trudnoće (41). Prema jednom istraživanju u Hrvatskoj, prehrana žena generativne dobi u našoj populaciji nije adekvatna obzirom na unos folata i folne kiseline putem hrane. Dobivene vrijednosti ($162,3 \pm 66$ mikrograma) znatno su niže od preporučenih 400 mikrograma. Istraživanje je provedeno na 600 ispitanica u tri hrvatska grada: Zagreb, Osijek i Rijeka; u sezoni ljeto/jesen te zima/proljeće s ciljem da se utvrdi postoji li značajna razlika među regijama i godišnjim dobima. Dobiveni rezultati ukazuju na to da se prehrambene navike našeg pučanstva mijenjaju, to jest da učestalost i vrsta konzumiranja, kao i način pripreme pojedinih namirnica, u ispitivanim regijama gube kako regionalna tako i sezonska obilježja. U ispitivanoj populaciji žena velik broj njih je konzumirao vitaminske napitke ili suplemente vitamina koji sadrže folnu kiselinu, što se pozitivno odrazilo na njihov folatni status. Tako su unatoč neadekvatnoj prehrani, uzimanjem suplemenata vitamina B₉, dobivene vrijednosti vitamina B₉ u serumu ukazivale da u ispitanoj skupini nije bilo kliničkog deficita vitamina B₉ (42).

Istraživanje provedeno među roditeljama u Zadarskoj županiji pokazalo je da je gotovo 80% žena upoznato s folnom kiselinom, ali da ju je pravilno uzimalo samo 16,5%. Savjet o uzimanju folne kiseline dobilo je samo 49% ispitanica. Svega 2% njih savjet je dobilo od liječnika, a čak 90% od ljekarnika. Pretpostavlja se da, dok to ne bude pravilo u zemljama EU, Hrvatska neće obogaćivati hranu folnom kiselinom, stoga je potrebno pronaći pravilnu kombinaciju svih raspoloživih metoda kako bi se ženama u fertilnoj dobi u Zadarskoj županiji, a i u ostatku Hrvatske omogućio njezin pravilan unos. Cjelovit pristup bi kroz edukaciju o prehrani, stilu života te pravilnu suplementaciju folnom kiselinom, mogao utjecati na smanjenje incidencije DNC-a (43).

Postoje jasne preporuke za uzimanje folne kiseline u perikonceptijskom i prekonceptijskom razdoblju kao mjera prevencije DNC, međutim još uvijek je nejasno može li taj dodatni unos folne kiseline spriječiti ili smanjiti rizik za nastanak drugih prirodnih anomalija. Problem postoji i u učinku različitih doza i oblika folata te interferiranju različitih čimbenika s metabolizmom folata. Zbog toga možda dnevni unos od 400 mikrograma neće imati protektivan čimbenik. Potrebna su još daljnja istraživanja o njegovoj primjeni u trudnoći (44).

6.2. Anemija u trudnoći

Drugi značajan problem u trudnoći povezan s nedostatkom vitamina B₉ jest anemija koja se javlja zbog nedostatka vitamina B₉, B₁₂ i željeza. Suplementi vitamina B₉ ponajviše su se počeli preporučati zbog prevencije i liječenja megaloblastične anemije u trudnoći (45). Diljem svijeta oko milijun žena i dojenčadi su u opasnosti od anemije - stanja povezanog s niskom porođajnom težinom, prematuritetom i neonatalnom smrću, uzrokom mentalne retardacije i smanjenom radnom sposobnošću. Uzroci anemije su mnogobrojni: gubitak krvi, parazitske infekcije, rak, hemoglobinopatije, malarije i nutritivne deficijencije kao što su: nedostatak željeza, vitamina B₁₂, vitamina A i vitamina B₉ (46). Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) smatra anemiju globalnim problemom. Velik udio žena reproduktivne dobi (29,6%) živi u zemljama gdje je prevalencija anemije iznad 40%. Također, više od pola svjetske populacije djece predškolske dobi (56,3%) i trudnica (57,5%) živi u takvim zemljama, od kojih je većina smještena u Africi, Aziji te Južnoj Americi (47). Anemija zbog nedostatka vitamina B₉ u razvijenim je državama rijetka, ali je i dalje prisutna u zemljama u razvoju, pogotovo u područjima gdje još postoji malarija, i s viskom incidencijom deficita željeza, hemoglobinopatija i HIV-a (48).

Tako je u Brazilu uveden program suplementacije željezom i folnom kiselinom ciljanim skupinama: 5 mikrograma željeza na dan od 20-og tjedna trudnoće sve do djetinjstva. Almeida & Cardoso (49) istraživale su unos folne kiseline u prevenciji anemije u Brazilu gdje je cilj nacionalnog programa smanjiti prevalenciju anemije u djece od 6. do 18. mjeseca, u trudnica, te u žena koje su rodile ili imale spontani pobačaj.

Prema smjernicama Instituta za medicinu preporučena doza za sprječavanje anemije u trudnih žena ista je kao i za DNC, 400 mikrograma na dan (50).

6.3. Kardiovaskularne bolesti

Kardiovaskularne bolesti (KVB) uzrokovane su poremećajima srca i krvnih žila, a obuhvaćaju sljedeća stanja: koronarna bolest srca (srčani udar), cerebrovaskularne bolesti (moždani udar), povišen krvni tlak (hipertenzija), periferna bolest arterija, reumatska vrućica, kongenitalne srčane greške i zatajenje srca. Glavni uzročnici su pušenje, fizička neaktivnost, nezdrava prehrana i konzumacija alkohola (51). Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) pretpostavlja da tri četvrtine svih smrti uzrokovanih KVB mogu biti spriječene promjenom loših životnih

navika (uključujući i prehranu). U Hrvatskoj su bolesti srca vodeći uzrok smrtnosti s udjelom od 47,4% u ukupnom mortalitetu (52).

U metabolizmu homocisteina nužni su vitamini B skupine: vitamin B₉, vitamin B₆, vitamin B₁₂ i vitamin B₂. Koncentracija tih vitamina obrnuto je proporcionalna koncentraciji homocisteina, odnosno nedostatak ovih vitamina dovodi do povišenja koncentracije homocisteina u plazmi (53). Osim uloge prehrane u povišenju koncentracije homocisteina, ulogu mogu imati i neke bolesti kao psorijaza, bolesti štitnjače, bubrežne bolesti. Osim nabrojanih čimbenika, povećan unos alkohola, pušenje, kava, muški spol, starija dob ili menopauza mogu također utjecati na metabolizam homocisteina (54). Polimorfizam gena za enzim MTHFR primjer je genetičkih defekata kao uzroka hiperhomocisteinemije. Snižanju ovog metabolita u serumu doprinosi tjelesna aktivnost, umjeren unos alkohola te unos vitamina B₉ i vitamina B₁₂.

Hiperhomocisteinemija je stanje kada su razine homocisteina u krvi više od 15 mikromola po litri. U zdravih ljudi koncentracije homocisteina u plazmi su između 5 i 15 mikromola po litri. Postoje poveznice između povišene koncentracije homocisteina u plazmi i kardiovaskularnih bolesti te njenih posljedica poput moždanog udara ili srčanog infarkta. Pretpostavlja se da hiperhomocisteinemija dovodi do oštećenja endotelih stanica, smanjenja fleksibilnosti krvnih žila i promjena u reakcijama hemostaze. Hiperhomocisteinemija također može dovesti do pojačanja negativnih pojava koje uzrokuju drugi štetni faktori poput hipertenzije, pušenja, dislipidemija, kao i do pojačavanja upale u tkivu (55).

Smatra se da su kardiovaskularne bolesti (KVB) danas odgovorne za trećinu smrti diljem svijeta, a taj postotak je u stalnom porastu (56). Zna se da povišeni krvni tlak dovodi do KVB. Brojni su uzročnici hipertenzije, a poveznica između hiperhomocisteinemije i krvnog tlaka bitna je zbog kardiotoksičnog učinka homocisteina. Homocistein može povišiti krvni tlak na više načina, kao na primjer oštećenjem vaskularnog endotela. Do oštećenja endotela dolazi uslijed oksidativnog stresa i smanjene količine dostupnog dušičnog oksida kao potetnog vazodilatatora. Zbog toga dolazi do pojačane vazokonstrukcije te samim time porasta krvnog tlaka. Homocistein utječe na porast kako sistoličkog tako i dijastoličkog krvnog tlaka. U muškaraca u kojih je koncentracija homocisteina bila povišena za 5 mikromola (1 standardna devijacija), tlak je bio povišen za 0,5-0,7 mmHg. Kod žena je ta povezanost još očitija. Tu je povećanje tlaka uz povišenje homocisteina za 5 mikromola po litri bilo 0,7-1,2 mmHg (57). Danas se diljem svijeta provode istraživanja o tome je li povišenje homocisteina u plazmi

prediktor za razvitak KVB i procjenu stupnja težine KVB te može li se dovoljnim unosom vitamina B₁₂ i vitamina B₉ spriječiti razvoj kardiovaskularnih bolesti. Takvo je istraživanje provedeno u Kini u razdoblju od listopada 2013. do rujna 2014. godine. U istraživanju su uspoređivane koncentracije metabolita u krvi u pacijenata s kroničnim kardiovaskularnim bolestima, koji su zaprimljeni u bolnicu zbog boli u prsima, te kontrolne grupe pacijenata. Istraživanje je pokazalo da je nivo koncentracije homocisteina u 80% pacijenata s kroničnim KVB bio povišen, dok je taj nivo bio povišen samo u 5% pacijenata kontrolne grupe. Nadalje, koncentracija homocisteina u krvi značajno je rasla s težinom bolesti. U pacijenata sa stabilnom anginom pectoris, 66% njih je imalo povišenu razinu homocisteina u krvi, dok je kod pacijenata s akutnim infarktom miokarda njih čak 93 % imalo povišene koncentracije homocisteina u krvi. U istraživanju je također pokazana negativna korelacija hiperhomocisteinemije s vitaminom B₉ i vitaminom B₁₂. Zaključak tog istraživanja je da je hiperhomocisteinemija povezana s težinom KVB, kao i nižom razinom vitamina B₉ i vitamina B₁₂ u serumu (58).

Već ranije spomenuto obogaćivanje hrane folnom kiselinom bila je podloga za istraživanje o tome koliko je taj povećani unos folne kiseline imao utjecaja na razinu homocisteina u serumu. Istraživanje provedeno u Sjedinjenim Američkim Državama na populaciji tinejdžeraprije obogaćivanja proizvoda od žitarica folnom kiselinom (srednja dob 14 godina) i nakon procesa fortifikacije (srednja dob 18 godina) pokazalo je razlike u serumskoj koncentraciji folata. Prosječna serumska koncentracija folata porasla je za 16%. Međutim, suprotno očekivanjima, razina homocisteina se nije smanjila s većom koncentracijom folne kiseline u serumu (59).

Nadalje, neka istraživanja ukazuju na štetnost prevelikog unosa vitamina B₉. Pokazalo se da iako je unos vitamina B₉ utjecao na sniženje razine homocisteina u serumu, to nije imalo nikakvog efekta na prevenciju kardiovaskularnih bolesti u populacijama s povećanim rizikom razvitka kardiovaskularnih bolesti. Jedno istraživanje ukazuje da čak ni nakon 7,3 godina uzimanja vitamina B₉ i praćenja nije postignuto značajno sniženje kardiovaskularnih bolesti u visokorizičnih žena (60). U jednoj drugoj meta-analizi, također se dolazi do zaključka da kod ispitanika s već poznatom bolešću krvnih žila, uzimanje vitamina B₉ ne dovodi do značajnijeg smanjenja rizika od KVB (61). Međutim meta-analiza, rađena 2007. godine, kaže da u pojedina u kojih do sad nije bilo moždanih udara, suplementacijom folne kiseline možemo značajno smanjiti rizik od moždanog udara te tako djelovati na primarnu prevenciju moždanog udara (62).

Zanimljivo je kako je doza unosa folne kiseline bitan faktor u redukciji rizika KVB. U provedenom istraživanju proučavalo se 56 pacijenata s koronarnom bolešću koji se nisu hranili proizvodima obogaćenima folnom kiselinom. Dio njih je primao nisku dozu (400 µg/dan) folne kiseline, a dio visoku (5 mg/dan) dok su treći dobivali placebo. Dokazano je da su pacijenti koji su primali niže doze folne kiseline imali poboljšanje vaskularne funkcije kroz efekte na endotelnu dušičnu oksid sintetazu i vaskularni oksidativni stres. Takve niske razine folne kiseline koje su oni primali odgovaraju razinama koje pojedinac svakodnevno uzima kroz prehranu. Davanje visokih doza folne kiseline nije pokazalo nikakav učinak na stanje krvnih žila (63).

Time se, dakle, može zaključiti kako je razina vitamina B₉ u serumu itekako povezana s razinom homocisteina u serumu. Međutim, povećanim unosom vitamina B₉ ne snizuje se linearno razina homocisteina.

6.4. Kognitivne bolesti

Homocistein, metabolit esencijalne aminokiseline metionina, zajedno s vitaminom B₁₂ i vitaminom B₉, sudjeluje u metaboličkim putovima kojima moždane stanice dobivaju energiju za svoj rad. Postoje poveznice između povišene razine homocisteina u plazmi s promjenom kognitivnih funkcija: od blagih kognitivnih poremećaja (zaboravljivost u starijoj životnoj dobi) do vaskularne demencije i Alzheimerove bolesti. Zbog značajne deficijencije vitamina B₁₂ i vitamina B₉ u starijih osoba, razine homocisteina rastu sukladno dobi ispitanika. Dokazano je da je hiperhomocisteinemija nezavisni rizični faktor za razvoj kognitivnih oboljenja. Ona može uzrokovati kako direktno tako i indirektno oštećenje vaskularnog endotela, koje je u podlozi vaskularne demencije, zatim povišenog rizika od moždanih udara te demencije. Postoji i značajna korelacija između povišenog nivoa homocisteina u plazmi i rizika za Alzheimerovu bolest skupa s niskim razinama vitamina B₁₂ i vitamina B₉. Dobrim nutritivnim statusom omogućuje se pravilno funkcioniranje ciklusa aminokiseline metionina te se samim time poboljšava metilacija i zaštita moždanog tkiva. Ovo je okosnica uključivanja folne kiseline u prehranu za prevenciju razvoja ili usporavanje kognitivnih bolesti (64).

Alzheimerova bolest. Alzheimerova bolest je bolest povezana s dobi sa snažnom genetičkom komponentom, međutim i neki modificirajući faktori poput prehrane mogu utjecati na njen razvitak. Već ranije spomenut nizak nivo vitamina B₉ i ostalih vitamina B kompleksa dovodi do povišenja koncentracije homocisteina u serumu (65). Homocistein oštećuje vaskularne strukture u mozgu. Osim povišenja homocisteina i nekoliko drugih mogućih bioloških

mehanizama, povezuje vitamin B₉ i druge vitamine B skupine s povišenim rizikom od Alzheimerove bolesti. Osim hiperhomocisteinemije, posljedica poremećenog metabolizma ugljika uključuje snižene koncentracije S-adenozil-metionina (SAM), povišene S-adenozil-homocisteina (SAH) i ograničenje folata koji mogu ući u sintezu nukleotida. SAM potreban je za metilaciju DNA, RNA i neurotransmitera, a neadekvatna koncentracija SAM može oštetiti vitalne strukture u mozgu. Tkivni faktor za inhibiciju puteva (TFPI) mogući je marker za endotelno oštećenje. U istraživanju provedenom u Koreji ispitivana je povezanost između koncentracije folne kiseline, vitamina B₁₂, homocisteina i TFPI u plazmi s kognitivnom funkcijom. Od tristo dvadeset i jednog ispitanika, njih sto imalo je blago kognitivno oštećenje, sto Alzheimerovu bolest, a sto dvadeset i jedan ispitanik bio je s normalnim moždanim funkcijama. U bolesnika s Alzheimerovom bolešću i u onih s kognitivnim oštećenjem, koncentracije homocisteina u plazmi bile su značajno više nego u normalnih ispitanika. Rezultati Mini testa za procjenu mentalnog stanja (MMSE) i Bostonskog testa imenovanja u pozitivnoj su korelaciji između nivoa folne kiseline u plazmi i vitamina B₁₂ u pacijenata s Alzheimerovom bolešću. Oni su također u negativnoj korelaciji s plazmatskim homocisteinom. Što su više bile koncentracije TFPI, to su rezultati Bostonskog testa imenovanja bili gori u pacijenata s ovim bolestima. U zdravih ispitanika nisu pronađene nikakve poveznice između nivoa ovih metabolita i testova za procjenu moždanih funkcija. Ovi rezultati ukazuju na to da su plazmatske koncentracije folata, vitamina B₁₂ i homocisteina kao i TFPI povezane s kognitivnim oštećenjem u te dvije bolesti (66).

Osim TFPI, kao biomarker za Alzheimerovu bolest mogla bi poslužiti i debljina sivog sloja u pojedinim regijama mozga. Uspoređujući koncentracije homocisteina u plazmi s 3D mapom distribucije sive tvari (debljina, volumen i naboranost površine) pokušalo se vidjeti postoje li promjene u odnosu na zdrave pojedince. Pojedinci s višim razinama homocisteina u plazmi imali su manju debljinu sive tvari bilateralno u frontalnoj, parijetalnoj, okcipitalnoj regiji i desnoj temporalnoj regiji te manji volumen sive tvari u lijevoj frontalnoj, parijetalnoj i okcipitalnoj regiji. Ove regionalne razlike u strukturi sive tvari mogle bi biti korisne kao biomarkeri za započinjanje intervencije, kao što je davanje suplementa vitamina B₉ za redukciju nivoa homocisteina i smanjenje atrofije mozga normaliziranjem razine homocisteina u serumu (67). U drugom istraživanju na pacijentima s povišenim rizikom od demencije dokazano je da tretman s visokom dozama B vitamina može usporiti smanjivanje volumena čitavog mozga čak za 2 godine. Kao nastavak tog istraživanja autori su pokušali dokazati da tretman visokom dozama vitamina B₉ smanjuje cerebralnu atrofiju upravo u

područjima karakterističnima za Alzheimerovu bolest, te je pokazan sljedeći lanac događaja: vitamin B₉ je snizio homocistein, što je direktno dovelo da siva tvar više ne atrofira te samim time dolazi do usporavanja kognitivnog slabljenja. Njihovi rezultati dokazuju da tretman vitaminom B može usporiti atrofiiju specifičnih dijelova mozga za Alzheimerovu bolest (68).

Demencija i blago kognitivno oštećenje. Još uvijek se ne zna sa sigurnošću utječe li uzimanje vitamina B kompleksa na smanjenje rizika od javljanja demencije u starijoj dobi. Mnogi autori su pokušali pronaći poveznicu između uzimanja kompleksa B vitamina i učestalosti demencije. Jedno prospektivno dugotrajno kohortno istraživanje pratilo je postmenopauzalne žene koje su uzimale vitamine B skupine od 1993. do 1998. godine. Ispitanice su u trenutku počinjanja istraživanja bile bez kognitivnih oštećenja i nisu imale demenciju. Količina vitamina B₉ koju su uzimale bila je ispod preporučenih dnevnih vrijednosti (eng. Recommended Daily Allowance- RDA). Takovo, nedovoljno uzimanje vitamina B₉ može povećati rizik od demencije i blagog kognitivnog oštećenja u kasnijem životu. Međutim, nije nađena povezanost demencije i blagog kognitivnog oštećenja s uzimanjem vitamina B₁₂ i B₆ (69).

S druge strane, postoje istraživanja u kojima je dokazano da uzimanje vitamina B₉ ne dovodi do značajnog sniženja rizika za razvoj demencije. U longitudinalnom istraživanju uspoređivane su razine homocisteina uzetog iz krvi 2001. godine iz populacije starijih u Yorubi u Africi i Afro-Amerikanaca u SAD-u. Ti uzorci raspoređeni su u dvije grupe na osnovu toga tko je do 2009. godine razvio demenciju i onih kod kojih je dijagnosticirano normalno kognitivno funkcioniranje. Nakon što su u obzir uzete godine, obrazovanje, moguća prisutnost ApoE, pušenje; više razine homocisteina u serumu nisu bile značajno povezane s povišenom učestalošću demencije u populaciji starijih iz Yorube. Ni u Afro-Amerikanaca više razine homocisteina nisu bile značajno povezane s razvitkom ovih bolesti. Iako je nivo vitamina B₉ u krvi bio značajno niži u Yorubškim ispitanika nego u Afro-Amerikanaca, a nivo vitamina B₁₂ povišen u odnosu na Afro-Amerikance, nije bilo povezanosti između koncentracije vitamina B₁₂ i vitamina B₉ u serumu s povišenom incidencijom demencije i blagog kognitivnog oštećenja (70).

Neka istraživanja nisu pronašla ni negativne ni pozitivne korelacije između uzimanja vitamina B₉ i razvoja demencije ili nekog kognitivnog oštećenja u starijih ljudi (71).

Nakon uvođenja fortifikacije u SAD-u 1998. godine, u cilju smanjenja incidencije defekata neuralne cijevi, neki su izrazili zabrinutost da bi višak folata u krvi mogao „maskirati“ deficit

vitamina B₁₂ te time prouzročiti razvoj ireverzibilnih neuroloških oštećenja. Ako je vitamin B₉ zaista povezan sa smanjenjem rizika za razvoj kognitivnih oštećenja ili Alzheimerove bolesti, očekivala bi se smanjena incidencija tih bolesti u populaciji koja koristi proizvode obogaćene folnom kiselinom. Međutim nisu dobiveni dokazi za tu tvrdnju. Štoviše, čak dva istraživanja koje je proveo Morris sa suradnicima (72) pokazuje da je u onih ispitanika s niskim koncentracijama vitamina B₁₂ u krvi, a visokim koncentracijama vitamina B₉ povećan rizik za anemiju i neurološko oštećenje. Ova su istraživanja podržala tvrdnje da visoke koncentracije folata u nekim slučajevima mogu biti i toksične.

Depresija. Mnogobrojna istraživanja pokušala su dokazati da uzimanje vitamina B₉ može smanjiti rizik od depresije. Međutim, većina pokušaja da se to dokaže je propala. Poznato je da folati interferiraju s mehanizmom nekih od antidepresivnih lijekova. Nakon saznanja da se samo uzimanjem folata ne može spriječiti razvoj velikog depresivnog poremećaja, istraživači su pokušali vidjeti postoji li ikakav benefit od uzimanja folata skupa s antidepresivnim lijekovima (73).

Folati su, kao dio kompleksa B vitamina, potrebni u mozgu za sintezu neurotransmitera: norepinefrina, serotonina i dopamina. Ti neurotransmiteri imaju ulogu u etiologiji velikog depresivnog poremećaja. Tri su oblika folata najučestalija: folna kiselina, 5-metilen-tetrahidrofolat i folinična kiselina. Neki pacijenti imaju genetske polimorfizme gena koji kodiraju za enzime koji metaboliziraju ove oblike folata i samim time imaju različitu bioraspodjelu nekih od ovih oblika folata. Osim polimorfizama i unos alkohola i nekih lijekova također može utjecati na bioraspodjelu i oblik folata u serumu. Dodatak folne kiseline u depresivnih pacijenata može smanjiti preostale simptome depresije, koji ostaju nakon farmakoterapije. U pacijenata s normalnim ili niskim nivoom folata u krvi, 5-metilen-tetrahidrofolat (5-MTHF) može kao adjuvantna ili monoterapija smanjiti depresivne simptome, poboljšavajući kognitivne funkcije ili ublažavajući depresivne simptome u starijih s demencijom. On također smanjuje depresivne simptome i u osoba koje boluju od depresije, a ujedno su i alkoholičari. Međutim i u ovom području postoje bojazni od upotrebljavanja folata zbog straha od potencijalnog većeg rizika za karcinom, za maskiranje nedostatka vitamina B₁₂ i pogoršavanja depresivnog poremećaja (74).

Veliki se depresivni poremećaj pojavljuje epizodično. Korisno bi bilo kad bi se po nekim pokazateljima uspjelo ustanoviti kada će se ponovno pojaviti depresivna epizoda i/ili spriječiti tu epizodu. Morris i suradnici (75) su 2003. godine proučavali povezanost razine vitamina B₉

u serumu i razvoja depresije, depresivnih simptoma i slabog odgovora na antidepresive. Istraživanje je obuhvaćalo ispitanike od 15 do 39 godina, od kojih su neki imali depresiju, neki distimiju (blaži oblik depresije), a neki su bili zdravi odnosno, nisu imali depresivni poremećaj. Nakon što su u obzir uzeti brojni kriteriji, utvrđeno je da su ispitanici koji su imali dokazan veliki depresivni poremećaj imali nižu koncentraciju folata u crvenim krvnim stanicama, nego zdravi ispitanici. Koncentracije homocisteina ovdje nisu bile povezane s povećanim razvitkom depresije. Zaključeno je da je bi u godini koja uslijedi nakon pojave depresivne epizode pacijenti trebali uzimati suplemente vitamina B₉.

Nadalje, rezultati istraživanja De Longa i suradnika (76) ukazali su da kod pacijenata s velikim depresivnim poremećajem postoji povećan rizik od razvitka šećerne bolesti tipa 2. Do toga je dolazilo zbog uzimanja lijekova iz skupine selektivnih inhibitora ponovnog unosa serotonina (SSRI) koji su dovodili do oksidativnog oštećenja beta stanica gušterače. SSRI su najčešće propisivani antidepresivi. Dodatkom vitamina B₉, kao snažnog antioksidansa može smanjiti oštećenje beta stanica gušterače koje bi SSRI prouzročili.

Ostali neuropsihijatrijski poremećaji. Povišen nivo homocisteina u krvi ima utjecaja i na Parkinsonovu bolest, posebno u onih pacijenata koji primaju L-dopu kao lijek, na multiplu sklerozu te na epilepsiju. Neki antiepileptici upravo i dovode do povišenja nivoa homocisteina u krvi te posljedično do razvoja nekih od ovih bolesti. Deficijencija vitamina B kompleksa je moguća u djece s poremećajima u razvoju, kao i u starijih pacijenata s neurodegenerativnim bolestima. Zbog toga se preporuča suplementna terapija vitaminima B skupine kao primarna, ali i sekundarna prevencija neuropsihijatrijskih poremećaja u pacijenata s nepovoljnim statusom vitamina u serumu (77).

Zbog utjecaja povišene razine homocisteina na razvoj ateroskleroze, u pacijenata koji koriste valproat kao monoterapiju za epilepsiju trebao bi se provoditi screening serumskih razina homocisteina, vitamina B₉ i vitamina B₁₂ te ukoliko postoji deficijencija dodati u terapiju vitamin B₉. Naime, istraživanje koje je provedeno na djeci koja koriste valproat kao jedini lijek protiv epilepsije, nađene su značajno povišene koncentracije homocisteina u serumu u usporedbi sa zdravom skupinom pojedinaca te u usporedbi s njihovim vlastitim razinama vitamina B₉ u serumu prije uvođenja terapije. Također, još je značajnije bilo sniženje razine vitamina B₉ u serumu nakon uvođenja valproata. Zbog toga se preporuča uz terapiju valproatom provoditi screening (78).

6.5. Karcinomi

Niska koncentracija folata u ljudi povezana je s razvitkom tumora epitelnih stanica, posebno kolorektalnog karcinoma. U velikom broju studija pronađena je poveznica između razine vitamina B₉ u serumu i kolorektalnog karcinoma. Vitamin B₉ je upravo kroz svoju ulogu u metabolizmu C1 ugljične skupine, bitan kako za DNA sintezu i popravak, tako i za metilaciju DNA. Kada postoji insuficijencija vitamina B₁₂, tada je ova funkcija vitamina B₉ poremećena. Upravo je deficijencija vitamina B₁₂ jedan od biomarkera DNA oštećenja. Još uvijek nije točno poznat metabolizam kojim nedostatak vitamina B₉ i vitamina B₁₂ točno dovode do oštećenja epitelnih stanica, međutim pretpostavlja se da nedostatak potonjih dovodi do smanjenja DNA metilacije, rezultat čega je aktivacija protoonkogeni te nestabilnost DNA molekule (79).

Osim uloge u razvoju kolorektalnog karcinoma, smatra se da je vitamin B₉ bitan i u mehanizmu nastanka nekih drugih vrsta karcinoma poput karcinoma prostate, pluća, dojke, jajnika, vrata maternice, gušterače i melanoma. Međutim, najnovija istraživanja govore u prilog tome da pojačan unos folata nema efekta ni na jedan od ovih vrsta karcinoma osim na melanom (80).

Kolorektalni karcinom. Kolorektalni karcinom treći je najčešći karcinom i četvrti vodeći uzrok smrti od karcinoma u svijetu (81). Iako je screening za kolorektalni karcinom smanjio i incidenciju i mortalitet, promjena životnih navika i dalje ostaje broj jedan u smanjenju rizika od razvoja kolorektalnog karcinoma. Prehrana igra značajnu ulogu u razvitku te samim time i u prevenciji kolorektalnog karcinoma. Istraživanja su pokazala kontradiktornost u uzimanju određenih namirnica i povećanog rizika za karcinome (4).

Dva su mehanizma kako deficit vitamina B₉ utječe na razvitak kolorektalnog karcinoma. Ako nema dovoljno vitamina B₉ u serumu može doći do mutacije u genu p53 koji je bitan za sprječavanje razvitka karcinoma. Drugi mehanizam uključuje vrlo čestu mutaciju u enzimu metilen-terahidrofolat reduktaze (MTHFR). Mutacija enzima MTHFR pokazuje poveznicu između vitamina B₉ i razvoja kolorektalnog karcinoma. MTHFR pretvara 5,10- metilen-tetrahydrofolat, oblik folata potreban za sintezu DNA u 5-metil-tetrahydrofolat kao oblik folata koji se nalazi u cirkulaciji i koji je potreban kao donor metilnih skupina u DNA metilaciji. Ukoliko postoji mutacija C667T i zamjena aminokiseline alanina valinom, to dovodi do nakupljanja 5,10-metilentetrahydrofolata u serumu i sniženja koncentracije 5 metil-tetrahydrofolata u serumu. Kada prehranom unos metilnih skupina bude visok, u pojedinaca s

ovom mutacijom snižen je rizik od razvitka kolorektalnog karcinoma. S druge strane, ukoliko je unos folata snižen, tada pojedinci s ovom mutacijom imaju veću šansu za razvitak kolorektalnog karcinoma (82).

Do smanjene metilacija DNA, koja dovodi do razvitka kolorektalnog karcinoma, može doći kako smanjenim unosom vitamina B₉, tako i pretjeranom konzumacijom alkohola. Alkohol interferira s metabolizmom vitamina B₉ i zbog toga povećava rizik za kolorektalni karcinom. Pri umjerenom unosu alkohola (manje od 30 g/dan) nije dokazana povezanica s razvitkom kolorektalnog karcinoma. Međutim, u kombinaciji s ostalim faktorima poput debljine, smanjenim unosom vitamina B₉ i mutacijama gena potrebnih u metabolizmu DNA, čak i umjeren unos alkohola može imati negativan utjecaj na razvitak kolorektalnog karcinoma (83).

Brojna su istraživanja u kojima se proučavalo kako uzimanje suplementa vitamina B₉ utječe na razvitak kolorektalnog karcinoma. Adenomi debelog crijeva i rektuma predstadij su kolorektalnog karcinoma. Istraživanje u Kini obuhvaćalo je ispitanike starije od 50 godina bez adenoma. Jedna je grupa ispitanika primala 1 miligram folne kiseline na dan, dok je druga primala placebo. Nakon 3 godine obje su grupe ispitanika išle na kolonoskopiju i izmjerena im je razina folata u serumu. U 14,88% ispitanika koji su dobivali folnu kiselinu se razvio adenom, dok je u grupi koja je dobivala placebo taj postotak bio značajno veći- 30,7%. Najčešći je bio adenom lijevog kolona. Zaključak istraživanja je da uzimanje suplemenata vitamina B₉ u dozi od 1 mikrogram na dan može biti primarna prevencija kolorektalnog karcinoma u onih ljudi koji do tada nemaju adenome. Tim istraživanjem se nije dokazala povećana incidencija kolorektalnog karcinoma u onih ispitanika koji su uzimali više doze vitamina B₉ (84).

Međutim, iako postoje mnogobrojna istraživanja koja su pokazala kako je uzimanje suplemenata bogatih vitaminom B₉ protektivni čimbenik u razvitku, postoje bojazni da prevelik unos vitamina B₉ može i uzrokovati kolorektalni karcinom. Obogaćivanje hrane folnom kiselinom propisano je zakonom u mnogim zemljama kao prevencija defekata neuralne cijevi u trudnoći. Te proizvode tada konzumira čitava populacija, a ne samo žene generativne dobi i trudnice. Zato postoji bojazan da visoke razine folata u serumu koje se postižu ili bi se mogle postići konzumiranjem takove hrane uzrokuju i neke neželjene učinke. Jedno je istraživanje pokušalo proučiti postoji li viši rizik za razvitak karcinoma u onih ispitanika koji su uzimali hranu obogaćenu folatima u periodu poslije uvođenja obaveznog

obogaćivanja hrane folatima u SAD-u. Zaključak istraživanja je da ne postoji povećana incidencija kolorektalnog karcinoma nakon uvođenja obaveznog obogaćivanja hrane folnom kiselinom, međutim postoji značajno smanjenje rizika za razvoj kolorektalnog karcinoma kod pojedinaca s visokim unosom folata (85).

Karcinom prostate. Trenutno se u brojnim istraživanjima pokušava dokazati povezanost između koncentracije vitamina B₉ u serumu i povećanog ili smanjenog rizika za razvitak karcinoma prostate uslijed toga. Karcinom prostate u SAD-u je drugi najčešće dijagnosticirani karcinom, kao i drugi vodeći uzrok smrti od raka u muškaraca. Incidencija dijagnosticiranih karcinoma prostate u SAD-u je značajno varirala tijekom zadnja tri desetljeća. Nakon otkrića da je PSA povezan s karcinomom prostate, 1992. godine je uočen značajan porast incidencije raka prostate. To se nakon nekoliko godina stabiliziralo, da bi u periodu od 1998. do 2002. godine opet bio uočen značajan porast incidencije karcinoma prostate. Razlog za prvi pik bila je bolja dijagnostika i pronalazak biomarkera PSA. Razlog drugom povećanju još nije u potpunosti razjašnjen, međutim nagađa se da je razlog tome porast razine folata u serumu nakon uvođenja obaveznog obogaćivanja hrane folnom kiselinom 1998. godine (86). Diljem svijeta različita je incidencija karcinoma prostate. U Kanadi je također uočen ovaj porast u sličnom razdoblju nakon obogaćivanja hrane folnom kiselinom. SAD ima jednu od najviših incidencija karcinoma prostate, dok su se s druge strane ljestvice, kao zemlje s najnižom incidencijom karcinoma prostate, našle azijske zemlje (87).

Ovo dovodi do zaključka da je ovaj karcinom snažno povezan kako s genetikom, tako i s okolišem u kojem ljudi žive. Naime, u onim azijskim zemljama koje su orijentirane prema zapadu i koje su prihvatile zapadnjačke običaje i zapadnjački način prehrane, incidencija karcinoma prostate je u porastu. Iz toga dolazi zaključak da je i prehrana jedan od bitnih faktora u razvitku karcinoma prostate (88).

Brojna su istraživanja u kojima je proučavan utjecaj prehrane na povećan rizik od razvitka karcinoma prostate. *National Cancer Institute* daje smjernice o namirnicama koje su protektivne te o namirnicama za koje se smatra kako povećavaju rizik za razvoj karcinoma prostate. Vitamin B₉ predstavljen je kao protektivni čimbenik, odnosno prehrana bogata vitaminom B₉ može smanjiti rizik od razvoja raka prostate. Folna je kiselina kao sintetski oblik vitamina B₉ predstavljena kao nutrijent koji može dovesti do razvitka karcinoma prostate (89). Podloga ovom zaključku je kliničko istraživanje u kojem se pratilo davanje aspirina i folne kiseline kao suplementa za kemoprevenciju kolorektalnih karcinoma. U

istraživanju je bilo šesto četrdeset i tri muškaraca koji su dobivali ili 1 miligram folne kiseline na dan ili placebo. Desetogodišnja mogućnost da im bude dijagnosticiran rak prostate je bila 9,7% za grupu koja je primala folnu kiselinu nasuprot 3,3% u grupi koja je uzimala placebo. U muškaraca koji nisu uzimali suplemente vitamina B₉ nije bilo značajnije povezanosti između rizika za karcinom prostate i uzimanja folne kiseline prehranom te folatnog statusa. Zato još valja istražiti i utvrditi koja je točno poveznica između prehrane i oblika vitamina B₉ u prevenciji karcinoma prostate (90).

Folati vjerojatno imaju dvostruku ulogu u razvoju raka prostate. Oni štite DNA od oštećenja, međutim isto tako, ukoliko već dođe do oštećenja DNA, djeluju kao promotori karcinogeneze. I dalje postoje brojni kontradiktorni epidemiološki podaci kako o protektivnoj, tako i o negativnoj ulozi folata na razvoj karcinoma prostate (91).

Karcinom dojke. Kao i u ostalim do sada navedenim karcinomima, i u razvoju karcinoma dojke vitamin B₉ ima dvojaku ulogu. Između ostalog, strategije za smanjenje incidencije karcinoma dojke preporučaju smanjenje izlaganju potencijalno štetnim tvarima koje bi mogle dovesti do razvitka ovog karcinoma. U ovom kontekstu uzimanje vitamina B₉ smanjuje rizik od razvoja raka dojke u žena koje konzumiraju alkohol. Naime poznato je da uzimanje alkohola povećava rizik za razvitak karcinoma dojke. Vitamin B₉ može smanjiti ovaj utjecaj alkohola na promociju karcinogeneze (92).

Meta-analiza koju su radili Chen i suradnici (93) obuhvatila je 16 prospektivnih istraživanja s ukupnom brojkom od 744 068 sudionika i 26 205 pacijentica s karcinomom dojke te 26 *case-control* istraživanja s ukupno 16 828 slučajeva i 21 820 kontrola u kojima se procijenjivala povezanost između uzimanja folata i rizika za razvoj karcinoma dojke. Ova metaanaliza pokazala je da je moguće da postoji nelinearna povezanost između uzimanja folata i razvitka karcinoma dojke. U žena koje su dnevno uzimale između 153 i 400 mikrograma folata pokazan je značajno smanjeni rizik za razvitak karcinoma dojke u usporedbi s onima koje su uzimale manje od 153 mikrograma, međutim ne i od onih koje su uzimale više od 400 mikrograma na dan. Povišeni unos folata putem prehrane smanjuje rizik u onih koje konzumiraju alkohol, no ne i u onih koje ga ne konzumiraju. Zaključak istraživanja je da bi folati mogli imati preventivnu ulogu u razvitku karcinoma dojke, pogotovo u žena koje konzumiraju značajnije količine alkohola. No još treba bolje istražiti ovu povezanost.

Karcinom pluća. Potencijalno štetni ili preventivni efekt folata može ovisiti o dozi koja se uzima te o populaciji koja uzima folate. Primjer za to je povezanost karcinoma pluća s nižim

odnosno višim unosom folata od preporučenih dnevnih doza. U meta-analizi rađenoj 2013. godine ispitivan je odnos doze i učinka uzimanja folata i rizika za razvoj karcinoma pluća. Zaključak je bio da uzimanje folata nema nikakav ili ima eventualno mali efekt na rizik za razvitak karcinoma pluća. Međutim u subpopulacijama taj je učinak ovisio o dozi koja se uzima. Pokazano je da u muškaraca povišen unos folata može biti povezan sa smanjenim rizikom za razvitak karcinoma pluća, dok u žena niži unos folata može imati taj preventivni efekt (94).

Folatni receptor. Sve važniju ulogu ima personalizirana medicina. Kod pacijenata s karcinomom pokušava se napraviti takva kemoterapija koja bi djelovala samo na stanice tumora, bez ili s minimalno interakcije s pacijentovim zdravim stanicama. Takvi se lijekovi mogu koristiti samo u pojedinim vrstama tumora, koji na površini imaju izražene različite molekule. Jedna od ciljanih molekula je i folatni receptor, koji se nalazi na površini mnogih tumora, uključujući i tumore pluća, ovarija, kolorektalnog karcinoma, karcinoma prostate itd. On je na površini tih tumorskih stanica preeksprimiran. Dvije su strategije kako bi se ovaj receptor mogao upotrijebiti u borbi protiv karcinoma. Jedno je stvaranje antitijela na folatni receptor, a drugo je stvaranje konjugata folata na koje bi vezali citostatike te bi oni tako direktno došli na stanice tumora koje na sebi imaju izraženi folatni receptor. Obje ove strategije se zasada nalaze u fazi III kliničkih istraživanja (95).

7. Zaključak

Pravilnom prehranom i dostatnim unosom vitamina B₉ moguće je spriječiti razvitak nekih bolesti. Jedno od prvih saznanja da vitamin B₉ dokazano može spriječiti neku bolest bio je dokaz da peri i prekonceptijsko uzimanje vitamina B₉ može smanjiti rizik za razvitak DNC. Zbog toga je CDC preporučio svim ženama generativne dobi uzimanje 400 mikrograma folne kiseline na dan kao primarnu prevenciju DNC. Osim smanjenja ovog rizika, dostatan unos vitamina B₉ u periodu trudnoće, dojenja i djetinjstva može spriječiti razvitak anemije.

Kardiovaskularne su bolesti najznačajniji uzrok smrtnosti kako u svijetu, tako i u Hrvatskoj. Zbog toga je metabolizam vitamina B₉ posebno dobro proučen u razvitku ateroskleroze. Kao mjera primarne prevencije ateroskleroze jest dostatan dnevni unos vitamina B₉ kojim se smanjuje koncentracija homocisteina u serumu i djeluje protektivno na kardiovaskularne strukture.

Vitamin B₉ ne može spriječiti razvoj kognitivnih bolesti, ali može umanjiti simptome kako depresije, tako i Alzheimerove bolesti. Zbog toga se pokušava doći do saznanja koje bi se doze vitamina B₉ mogle koristiti kao adjuvantna terapija u navedenim kognitivnim oboljenjima.

Kod nekih drugih bolesti ili stanja povećano uzimanje vitamina B₉ nema tako jasno izraženu pozitivnu korelaciju sa smanjenjem rizika za razvoj bolesti. Područje u kojem postoji najviše dvojbi jest proces karcinogeneze. Vitamin B₉ ima značajnu ulogu u razvitku karcinoma. Zbog toga su različite studije pokušale dokazati da viši unos folata smanjuje rizik za razvoj karcinoma. Za sada je to dokazano jedino za kolorektalni karcinom. Međutim, zbog bojazni da povišeni unos folata može imati i negativan utjecaj u procesu karcinogeneze, smjernice o potencijalnom uzimanju vitamina B₉ kao primarnoj prevenciji karcinoma ne postoje. Potrebna su dodatna istraživanja kako bi se točno znalo u kojem obliku i u kojim dozama vitamin B₉ ima protektivan učinak.

Vitaminom B₉ moguće je djelovati na prevenciju različitih oboljenja na jednostavan i jeftin način. Također, zbog jednostavnosti primjene, moguće je obuhvatiti velik dio svjetske populacije uključujući i Hrvatsku.

8. Zahvala

Zahvaljujem se svim profesorima i asistentima na fakultetu, svojoj mentorici izv.prof.dr.sc. Jasni Pucarín-Cvetković, koja mi je uvelike pomogla i olakšala pisanje ovog diplomskog rada, svojoj obitelji jer je uvijek u svim trenucima bila uz mene i svojim prijateljima uz koje su mi studentski dani bili ljepši i veseliji.

9. Literatura

1. Ball GFM. Folate. U: Vitamins in foods: analysis, bioavailability, and stability. Boca Raton: CRC Press; 2006. Str. 232–33.
2. Bailey LB. Folic acid. U: Zempleni J, McCormick DB, Suttie JW, ur. Handbook of Vitamins. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group; 2007. Str. 387.
3. Zhao R, Matherly LH, Goldman ID. Membrane transporters and folate homeostasis: intestinal absorption and transport into systemic compartments and tissues. *Expert Rev Mol Med*. 2009;11:e4.
4. Institute of Medicine. Food and nutrition board. Dietary reference intakes: thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B₆, folate, vitamin B₁₂, pantothenic acid, biotin, and choline. [Internet] Washington, DC: National Academy Press; 2012 [pristupljeno 12.11.2016] Dostupno na :
<http://www.nap.edu/>
5. Melse-Boonstra A, Verhoef P, Konings EJM, van Dusseldorp M, Matser A, Hollman PCH i sur. Influence of processing on total, monoglutamate and polyglutamate folate contents of leeks, cauliflower, and green beans. *J. Agric Food Chem*. 2002;50:3473–8.
6. Choi SW, Mason JB. Folate and carcinogenesis: an integrated scheme. *J Nutr*. 2010;130(2):129-32.
7. Gamulin S, Marušić M, Kovač Z i sur. Poremećaji prometa specifičnih metaboličkih tvari. U: Gamulin S i sur, ur. Patofiziologija. Zagreb: Medicinska naklada; 2002. Str. 197-238.
8. Tollefsbol T. Epigenetics: The new science of genetics. U: Tollefsbol TO ur. Handbook of epigenetics: The new molecular and medical genetics. London-Burlington-San Diego: Elsevier; 2011. Str. 1–6.
9. Nemet D. Anemija i druge manifestacije nedostatka željeza, vitamina B₁₂ i folata. *Medicus*. 2000;9(1):59-71.
10. OMIM – Online Mendelian Inheritance in Man [Internet] [pristupljeno 11.11.2016.] Dostupno na:
<http://omim.org/entry/607093>
11. Yun L, Xu R, Li G, Yao Y, Li J, Cong D i sur. Homocysteine and the C677T gene polymorphism of its key metabolic enzyme MTHFR are risk factors of early renal

- damage in hypertension in a Chinese Han population. *Medicine (Baltimore)*. 2015;94(52):23.
12. Shiran A, Remer E, Asmer I, Karkabi B, Zittan E, Cassel A i sur. Association of vitamin B₁₂ deficiency with homozygosity of the TT MTHFR C677T genotype, hyperhomocysteinemia, and endothelial cell dysfunction. *Isr Med Assoc J*. 2015;17(5):288-92.
 13. Kang SS, Passen EL, Ruggie N, Wong PW, Sora H. Thermolabile defect of methylenetetrahydrofolate reductase in coronary artery disease. *Circulation*. 1993;88:1463–9.
 14. Hoffbrand A. Megaloblastic Anemias. U: Harrison's Principles of Internal Medicine. Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson J, Loscalzo J. [Internet] [pristupljeno 10.1.2017.] Dostupno na: <http://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=331§ionid=40726843>
 15. Blom HJ, Smulders Y. Overview of homocysteine and folate metabolism. With special references to cardiovascular disease and neural tube defects. *J Inherit Metab Dis*. 2011;34:75–81.
 16. Rimm EB, Stampfer MJ. Folate and cardiovascular disease: one size does not fit all. *Lancet*. 2011;378:544–6.
 17. Lopes da Silva S, Vellas B, Elemans S, Luchsinger J, Kamphuis P, Yaffe K i sur. Plasma nutrient status of patients with Alzheimer's disease: Systematic review and meta-analysis. *Alzheimers Dement*. 2013; 10(4):485-502.
 18. Taylor MJ, Carney SM, Goodwin GM, Geddes JR. Folate for depressive disorders: systematic review and metaanalysis of randomized controlled trials. *J Psychopharmacol*. 2014;8:251–6.
 19. Bailey LB, Gregory JF. Folate. U: Bowman B, Russell R, ur. Present Knowledge in Nutrition. Washington: International Life Sciences Institute; 2006. Str. 278–301.
 20. Kim YI. Folate and colorectal cancer: an evidencebased critical review. *Mol Nutr Food Res*. 2007;51:267-92.
 21. Nelen WL, Blom HJ, Steegers EA, den Heijer M, Thomas CM, Eskes TK. Homocysteine and folate levels as risk factors for recurrent early pregnancy loss. *Obstet Gynecol*. 2000;95:519-24.
 22. Lumley J, Watson L, Watson M, Bower C. Periconceptional supplementation with folate and/or multivitamins for preventing neural tube defects. *Cochrane Database Syst Rev* 2001;(3):CD0010.

23. Centers for Disease Control and Prevention. CDC Grand Rounds: Additional opportunities to prevent neural tube defects with folic acid fortification. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2010;59(31):980–4.
24. Godwin KA, Sibbald B, Bedard T, Kuzeljevic B, Lowry RB, Arbour L. Changes in frequencies of select congenital anomalies since the onset of folic acid fortification in a Canadian birth defect registry. *Can J Public Health.* 2008;99:271-5.
25. Chen CP. Syndromes, disorders and maternal risk factors associated with neural tube defects (II). *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2008;47:10-7.
26. Boyles AL, Billups AV, Deak KL, Siegel DG, Mehlretter L, Slifer SH, i sur. Neural tube defects and folate pathway genes: family-based association tests of gene-gene and gene-environment interactions. *Environ Health Perspect.* 2006;114:1547-52.
27. Wynn A, Wynn M. The effects of food shortage on human reproduction. *Nutr Health.* 1993;9:43-52.
28. Grewal J, Carmichael SL, Song J, Shaw GM. Neural tube defects: an analysis of neighbourhood- and individual-level socio-economic characteristics. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2009;23:116-24.
29. Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA.* 2002;287:356-9.
30. MRC Vitamin Research Group. Prevention of neural tube defects: results of the Medical Research Council Vitamin Study. *Lancet* 1991;338:131-7.
31. Patterson D. Folate metabolism and the risk of Down syndrome. *Downs Syndr Res Pract.* 2008;12:93-7.
32. Weingärtner J, Lotz K, Fanghänel J, Gedrange T, Bienengräber V, Proff P. Induction and prevention of cleft lip, alveolus and palate and neural tube defects with special consideration of B vitamins and the methylation cycle. *J Orofac Orthop.* 2007;68:266-77.
33. EUROCAT database. [Internet] [pristupljeno 10.1.2017.] Dostupno na: <http://www.eurocat-network.eu/preventionandriskfactors/riskfactorsreview>
34. Choumenkovitch SF, Selhub J, Wilson PW, Rader JI, Rosenberg IH, Jacques PF. Folic acid intake from fortification in United States exceeds predictions. *J Nutr.* 2002;132(9):2792-8.

35. Jacques PF, Selhub J, Bostom AG, Wilson PW, Rosenberg IH. The effect of folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations. *N Engl J Med.* 1999;340:1449-54.
36. Ionescu-Ittu R, Marelli AJ, Mackie AS, Pilote L. Prevalence of severe congenital heart disease after folic acid fortification of grain products. Time trend analysis in Quebec, Canada. *Brit Med J.* 2009;338:1673.
37. Hernandez-Diaz S, Werler MM, Walker AM, Mitchell AA. Folic acid antagonists during pregnancy and the risk of birth defects. *N Engl J Med.* 2000;343:1608–14.
38. De-Regil LM, Fernández-Gaxiola AC, Dowswell T, PeñaRosas JP. Effects and safety of periconceptional folate supplementation for preventing birth defects. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010;CD007950
39. EUROCAT database. Special Report: Prevention of neural tube defects by periconceptional folic acid supplementation in Europe. [Internet] [pristupljeno 10.1.2017.] Dostupno na:
<http://www.eurocat-network.eu/content/Special-Report-NTD-3rdEd-Part-I.pdf>
40. SACN – Scientific Advisory Committee on Nutrition. Norwich: Folic acid and colorectal cancer risk: Review of recommendation for mandatory folic acid fortification; The Stationary Office . [Internet] [pristupljeno 15.12.2017.] Dostupno na:
<http://www.sacn.gov.uk/>
41. EUROCAT database (2016) Special Report: Periconceptional folic acid supplementation for Croatia [Internet] [pristupljeno 07.12.2016.] Dostupno na:
<http://www.eurocatnetwork.eu/preventionandriskfactors/folicacid/folicacidspecialreports>
42. Pucarín Cvetković J. Procjena unosa folne kiseline i folata u prehrani mlađih žena. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet; 2004.
43. Vitale K, Sović S, Milić M, Balorda Lj, Todorović G, Uhoda B. Folna kiselina- što znaju i kako je koriste rođilje u Zadarskoj županiji. *Med Jad* 2012;41:3-4.
44. Babić Božović I, Vraneković J. Folati i folna kiselina: dosadašnje spoznaje. *Medicina fluminensis.* 2014;50(2):169-75.
45. Smail SA. Dietary supplements in pregnancy. *J R Coll Gen Pract.* 1981;31:707-11.
46. World Health Organization. Nutritional anemia. WHO Geneva, 2007.
47. World Health Organization. Global database on anaemia. WHO. Geneva, 2008.

48. Metz J. A high prevalence of biochemical evidence of vitamin B₁₂ or folate deficiency does not translate into a comparable prevalence of anemia. *Food Nutr Bull.* 2008;29(2):74-85.
49. Almeida LC, Cardoso MA. Recommendations for folate intake in women: implications for public health strategies. *Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro.* 2010;26(11):2011-26.
50. Earl R, Woteki CE. Institute of Medicine (US) Committee on the prevention, detection, and management of iron deficiency anemia among U.S. children and women of childbearing age; Washington (DC): National Academies Press (US); 1993.
51. World Health Organization. [Internet] [pristupljeno 18.12.2016.] Dostupno na: http://www.who.int/topics/cardiovascular_diseases/en/
52. Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Hrvatski zdravstveno statistički ljetopis za 2015. godinu. [Internet] Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo; 2016 [pristupljeno 20.2.2017.] Dostupno na: <http://www.hzjz.hr/hrvatski-zdravstveno-statisticki-ljetopis/hrvatski-zdravstveno-statisticki-ljetopis-za-2015-tablicni-podaci/>
53. Misra A, Vikram NK, Pandey RM, Dwivedi M, Ahmad FU, Luthra K i sur. Hyperhomocysteinemia and low intakes of folic acid and vitamin B₁₂ in Urban North India. *Eur J Nutr.* 2002;41:68-77.
54. Faeh D, Chiolerio A, Paccaud F. Homocysteine as a risk factor for cardiovascular disease: should we (still) worry about it? *Swiss Med Wkly.* 2006;136:745-56.
55. Baszczuk A, Kopczynski Z. Hyperhomocysteinemia in patients with cardiovascular disease. *Postepy Hig Med Dosw.* 2014;68:579-89.
56. Mangge H, Becker K, Fuchs D, Gostner JM. Antioxidants, inflammation and cardiovascular disease. *World J Cardiol.* 2014;6(6):462-77.
57. Lim U, Cassano PA. Homocysteine and blood pressure in the third national health and nutrition examination survey, 1988-1994. *Oxford Journals: Am J Epidemiol.* 2002;156:1105-13.
58. Liu C, Yang Y, Peng D, Chen L, Luo J. Hyperhomocysteinemia as a metabolic disorder parameter is independently associated with the severity of coronary heart disease. *Saudi Med J.* 2015;36(7):839-46.
59. Enquobahrie DA, Feldman HA, Hoelscher DH, Steffen LM, Webber LS, Zive MM i sur. Serum homocysteine and folate concentrations among a US cohort of adolescents before and after folic acid fortification. *Public Health Nutr.* 2012;15(10):1818-26.

60. Albert CM, Cook NR, Gaziano JM, Zaharris E, MacFadyen J, Danielson E i sur. Effect of folic acid and B vitamins on risk of cardiovascular events and total mortality among women at high risk for cardiovascular disease: a randomized trial. *JAMA*. 2008;299(17):2027–36.
61. Bazzano LA, Reynolds K, Holder KN, He J. Effect of folic acid supplementation on risk of cardiovascular diseases: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA*. 2006;296(22):2720–6.
62. Wang X, Qin X, Demirtas H, Li J, Mao G, Huo Y i sur. Efficacy of folic acid supplementation in stroke prevention: a meta-analysis. *Lancet*. 2007;369(9576):1876–82.
63. Shirodaria C, Antoniadis C, Lee J, Jackson CE, Robson MD, Francis JM i sur. Global improvement of vascular function and redox state with low-dose folic acid: implications for folate therapy in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2007;115(17):2262–70.
64. Miller AL. The methionine-homocysteine cycle and its effects on cognitive diseases. *Altern Med Rev*. 2003;8(1):7-19.
65. Selhub J. Folate, vitamin B₁₂ and vitamin B₆ and one carbon metabolism. *J Nutr Health Aging* 2002;6(1):39-42.
66. Kim G, Kim H, Kim KN, Son YI, Kim SY, Tamura T i sur. Relationship of cognitive function with B vitamin status, homocysteine, tissue pathway inhibitor factor in cognitively impaired elderly: a cross-sectional survey. *J Alzheimers Dis*. 2013;33(3):853-62.
67. Madsen SK, Rajagopalan P, Joshi SH, Toga AW, Thompson PM. Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI). Higher homocysteine associated with thinner cortical gray matter in 803 participants from the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. *Neurobiol Aging*. 2015;36(1):203-10.
68. Douaud G, Refsum H, de Jager CA, Jacoby R, Nichols TE, Smith SM i sur. Preventing Alzheimer's disease-related gray matter atrophy by B-vitamin treatment. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013;110(23):9523-8.
69. Agnew-Blais JC, Wassertheil-Smoller S, Kang JH, Hogan PE, Coker LH, Snetselaar LG i sur. Folate, vitamin B₆, and vitamin B₁₂ intake and mild cognitive impairment and probable dementia in the Women's Health Initiative Memory Study. *J Acad Nutr Diet*. 2005;115(2):231-41.

70. Hendrie HC, Baiyewu O, Lane KA, Purnell C, Gao S, Hake A i sur. Homocysteine levels and dementia risk in Yoruba and African Americans. *Int Psychogeriatr.* 2013;25(11):1859-66.
71. Nelson C, Wengreen HJ, Munger RG, Corcoran CD. Dietary folate, vitamin B₁₂, vitamin B₆ and incident Alzheimer's disease: the cache county memory, health and aging study. *J Nutr Health Aging.* 2009;13(10):899-905.
72. Morris MS, Jacques PF, Rosenberg IH, Selhub J. Folate and vitamin B₁₂ status in relation to anemia, macrocytosis, and cognitive impairment in older Americans in the age of folic acid fortification. *Am J Clin Nut.* 2007;85:193–200.
73. Owen RT. Folate augmentation of antidepressant response. *Drugs Today (Barc).* 2013 49(12):791-8.
74. Fava M, Mischoulon D. Folate in depression: efficacy, safety, differences in formulations, and clinical issues. *J Clin Psychiatry.* 2009;5:12-7.
75. Morris MS, Fava M, Jacques PF, Selhub J, Rosenberg IH. Depression and folate status in the US population. *Psychother Psychosom.* 2003;72(2):80-7.
76. De Long NE, Hyslop JR, Raha S, Hardy DB, Holloway AC. Fluoxetine-induced pancreatic beta cell dysfunction: New insight into the benefits of folic acid in the treatment of depression. *J Affect Disord.* 2014;166:6-13.
77. Herrmann W, Lorenzl S, Obeid R. Review of the role of hyperhomocysteinemia and B-vitamin deficiency in neurological and psychiatric disorders--current evidence and preliminary recommendations. *Fortschr Neurol Psychiatr.* 2007;75(9):515-27.
78. Sharma TK, Vardey SK, Sitaraman S. Evaluate the effect of valproate monotherapy on the serum homocysteine, folate and vitamin B₁₂ levels in epileptic children. *Clin Lab.* 2015;61(8):933-40.
79. Duthie SJ, Narayanan S, Sharp L, Little J, Basten G, Powers H. Folate, DNA stability and colo-rectal neoplasia. *Proc Nutr Soc.* 2004;63(4):571-8.
80. Qin X, Cui Y, Shen L, Sun N, Zhang Y, Li J i sur. Folic acid supplementation and cancer risk: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Int J Cancer* 2013;133(5):1033-41.
81. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, et al. GLOBOCAN 2012 Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013. Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC Cancer Base No. 11 [Internet] [pristupljeno 16.1.2017.] Dostupno na:

http://gco.iarc.fr/today/online-analysis-pie?mode=cancer&mode_population=continent&population=900&sex=0&cancer=29&type=0&statistic=0&prevalence=0&color_palette=default

82. Mingyang S, Garrett SW, Chan TA. Nutrients, foods, and colorectal cancer prevention. *Gastroenterology*. 2015;148(6):1244–60.
83. Klarich DS, Brassler SM, Hong MY. Moderate alcohol consumption and colorectal cancer risk. *Alcohol Clin Exp Res*. 2015;39(8):1280-91.
84. Gao QY, Chen HM, Chen YX, Wang YC, Wang ZH, Tang JT i sur. Folic acid prevents the initial occurrence of sporadic colorectal adenoma in Chinese older than 50 years of age: a randomized clinical trial. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2013;6(7):744-52.
85. Stevens VL, McCullough ML, Sun J, Jacobs EJ, Campbell PT, Gapstur SM. High levels of folate from supplements and fortification are not associated with increased risk of colorectal cancer. *Gastroenterology*. 2011;141(1):98-105.
86. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin*. 2013;63(1):11-30.
87. Baade PD, Youlten DR, Krnjacki LJ. International epidemiology of prostate cancer: geographical distribution and secular trends. *Mol Nutr Food Res*. 2009;53(2):171-84.
88. Shimizu H, Ross R, Bernstein L, i sur. Cancers of the prostate and breast among japanese and white immigrants in Los Angeles County. *Br J Cancer*. 1991;63:963–66.
89. National Cancer Institute. [Internet] [pristupljeno 16.1.2017.] Dostupno na: <https://www.cancer.gov/types/prostate/patient/prostate-prevention-pdq>
90. Figueiredo JC, Grau MV, Haile RW, i sur. Folic acid and risk of prostate cancer: results from a randomized clinical trial. *J Natl Cancer Inst*. 2009;101:432–5.
91. Rycyna KJ, Bacich DJ, O’Keefe DS. Opposing roles of folate in prostate cancer. *Urology*. 2013; 82(6):1197-203.
93. Mahoney MC, Bevers T, Linos E, Willett WC. Opportunities and strategies for breast cancer prevention through risk reduction. *CA Cancer J Clin*. 2008;58(6):347-71.
93. Chen P, Li C, Li X, Li J, Chu R, Wang H. Higher dietary folate intake reduces the breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Br J Cancer*. 2014;110(9):2327-38.
94. Zhang YF, Zhou L, Zhang HW, Hou AJ, Gao HF, Zhou YH. Association between folate intake and the risk of lung cancer: a dose-response meta-analysis of prospective studies. *PLoS One*. 2014;9(4):e93465.

95. Ledermann JA, Canevari S, Thigpen T. Targeting the folate receptor: diagnostic and therapeutic approaches to personalize cancer treatments. *Ann Oncol.* 2015;26(10):2034-43.

10. Životopis

Petra Orlić studentica je šeste godine Medicinskog fakulteta u Zagrebu. Rođena je 23. travnja 1992. godine u Zagrebu. Živi u Zagrebu gdje je pohađala Osnovnu školu Brezovica u razdoblju od 1999. do 2007. godine. Prvu gimnaziju u Zagrebu upisala je 2007. godine, a maturirala je 2011. godine. Od 2011. godine studira na Medicinskom fakultetu u Zagrebu. Aktivno se koristi engleskim jezikom i u govoru i u pismu, a francuskim se jezikom koristi pasivno u pismu. Od tehničkih vještina dobro se snalazi na računalu. Nema radnog iskustva u struci, a izvan nje bavila se davanjem instrukcija djeci u osnovnoj školi. U slobodno vrijeme puno šeće kućnog ljubimca i bavi se svojom malom obitelji.