



UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA



Ústav výživy 3. LF UK

Lenka Frühaufová

**Zdroje a význam přírodních antioxidantů  
pro zdraví člověka**

*Sources and Importance of Natural Antioxidants  
for Human Health*

*Diplomová práce*

Praha, 2007

Autor práce: Lenka Frühaufová

Studijní program: Magisterské studium Všeobecné lékařství

Vedoucí práce: **MUDr. Jolana Rambousková, CSc.**

Pracoviště vedoucího práce: **Ústav výživy 3. LF**

Datum a rok obhajoby: 15.1.2008

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem předkládanou práci zpracovala samostatně a použila jen uvedené prameny a literaturu. Současně dávám svolení k tomu, aby tato diplomová práce byla používána ke studijním účelům.

V Liberci dne 27.prosince 2007

Jméno: Lenka Frühaufová

Podpis:

# Obsah

Úvod.....	5
<b>1. Volné radikály a antioxidanty.....</b>	<b>6</b>
1.1. Volné radikály, RONS.....	6
1.1.1. Reaktivní formy kyslíku (ROS).....	7
1.1.2. Reaktivní formy dusíku (RNS).....	8
1.1.3. Fyziologické a patologické účinky RONS v organismu.....	9
1.2. Antioxidační obrana organismu.....	10
<b>2. Speciální část.....</b>	<b>12</b>
2.1. Nízkomolekulární antioxidanty.....	12
2.1.1. Vitamin C.....	12
2.1.2. Vitamin E.....	16
2.1.3. Vitamin A.....	19
2.1.4. Karotenoidy.....	23
2.1.4.1. $\beta$ -karoteny.....	23
2.1.4.2. Lycopen.....	26
2.1.4.3. Ostatní karotenoidy.....	27
2.1.5. Selen.....	28
2.1.6. Foláty.....	32
2.2. Flavonoidy.....	35
<b>Závěr.....</b>	<b>43</b>
<b>Souhrn.....</b>	<b>44</b>
<b>Summary.....</b>	<b>45</b>
<b>Seznam použité literatury.....</b>	<b>46</b>

## Úvod

Existence volných radikálů jako účastníků biologických pochodů vědci předpokládali již na počátku 20. století. Vzhledem k vlastnostem těchto látek, jejich lability a velmi krátkému biologickému poločasu bylo ovšem jejich zkoumání náročné až nemožné, a proto k hlubšímu poznávání docházelo až s rozvojem příslušných výzkumných metod. Ruku v ruce s odkrýváním tajemství a zákonitostí oxidačního poškození biologických makromolekul docházelo k soustředění pozornosti také na systém, který je schopen tomuto působení zabránit a udržovat v buňce rovnováhu, systém antioxidační. Ten je tvořen rozmanitou skupinou látek od enzymů katalyzujících oxidoredukční reakce přes plasmatické bílkoviny až po látky, které si lidské tělo není schopné samo vyprodukovat a musí je přijímat s potravou. Předmětem výzkumu jsou nyní interakce obou těchto systémů a především aplikace nabytých poznatků do praxe. Jakou roli hrají volné radikály v patogenezi chorobných stavů jako jsou kardiovaskulární onemocnění nebo zhoubné bujení? Jak se účastní prenatalního poškození plodu? Podílejí se na procesu stárnutí? Společně se získáváním odpovědí na tyto a mnohé jiné otázky se logicky objevuje další: můžeme použít látky s antioxidačními účinky v prevenci či léčbě těchto stavů?

V první části této práce jsem se soustředila na obecný úvod do tematiky volných radikálů a antioxidantů. Druhá část je potom věnována bližším informacím o některých skupinách látek s prokázanými antioxidačními schopnostmi, které se přirozeně vyskytují v prostředí kolem nás a jsou běžnou součástí naší stravy. U každé skupiny jsou uvedeny její přírodní zdroje, doporučené denní dávky, chemické aspekty a dosavadní znalosti o jejich antioxidačním působení.

# **1. Volné radikály a antioxidanty**

## ***1.1 Volné radikály, RONS***

Výzkum posledních čtyřiceti let ukazuje, že vědci původně opomíjená a často zpochybňovaná skupina volných radikálů hraje v biologických systémech nemalou roli. Jedním z důvodů, proč se tato skupina látek nacházela v pozadí zájmu je jejich velká labilita v prostředí a velmi krátký biologický poločas, tehdy dostupnými metodami se tedy daly jen těžko sledovat. Do popředí zájmu se začala dostávat až v 60. letech 20. století, kdy Irwin Fridovich a Joe McCord objevili enzym superoxiddismutázu. Svojí prací prokázali, že volné radikály jsou běžnou součástí všech živých tkání, účastní se základních životně nezbytných metabolických pochodů v buňkách a každá buňka musí být vybavena mechanismy, které ji před působením volných radikálů uchrání. Od té doby jsou volné radikály a jejich možné role v patogenetických pochodech v organismu podrobně zkoumány.

Jako volné radikály označujeme molekuly, které obsahují minimálně jeden orbital s nepárovým elektronem. K lepšímu pochopení připomeňme, že každý atom je tvořen jádrem obsahujícím protony a neutrony, kolem kterých v jednotlivých energetických hladinách (orbitalech) obíhají elektrony. V každém orbitalu se mohou vyskytovat maximálně dva elektrony, podmínkou je jejich opačný spin. Radikály mohou být jak neutrální molekuly, tak i záporně či kladně nabitě ionty. Přítomnost nepárového elektronu je příčinou extrémní reaktivity většiny těchto molekul. Volný radikál se snaží doplnit chybějící elektron nebo naopak odevzdat nepárový. Při reakci s molekulou s orbitaly plně obsazenými se tedy radikálová reakce šíří do okolí a ukončí se až spojením dvou radikálů. Důležitým momentem v patogenezi mnoha onemocnění se zdá být právě schopnost volných radikálů snadno reagovat s různými biologickými makromolekulami - s lipidy, proteiny a nukleovými kyselinami.

Hovořit pouze o volných radikálech, pokud popisujeme látky podílející se na prooxidačních pochodech v organismu, je ovšem poněkud nepřesné. Termínem, který lépe vystihuje situaci je RONS - reactive oxygen and nitrogen species, tedy reaktivní formy kyslíku a dusíku. Ne všichni zástupci této skupiny

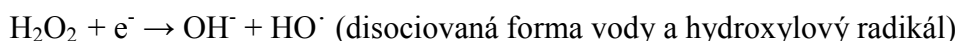
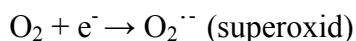
jsou totiž volné radikály s nepárovým elektronem, řadíme sem i látky s vysokou schopností volné radikály generovat.

### 1.1.1. Reaktivní formy kyslíku (ROS)

<b>Volné radikály</b>	<b>Látky, které nejsou volnými radikály</b>
superoxid, O <sub>2</sub> <sup>·</sup>	peroxid vodíku, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
hydroxylový radikál, HO <sup>·</sup>	kyselina chlorná, HOCl
peroxyl, ROO <sup>·</sup>	ozon, O <sub>3</sub>
alkoxyl, RO <sup>·</sup>	singletový kyslík, <sup>1</sup> O <sub>2</sub>
hydroperoxyl, HO <sub>2</sub> <sup>·</sup>	

Zdroj: (1)

Základní pro život nezbytnou reakcí organismů žijících v kyslíkové atmosféře je schopnost uvolňovat energii z redukčních ekvivalentů při pasáži tzv. respiračním řetězcem - od elektronegativních komponent až po konečnou reakci s kyslíkem za vzniku dvou molekul vody. Tyto reakce probíhají na vnitřní mitochondriální membráně, uvolněná energie je zachycována, transformována do vysokoenergetických fosfátů (ATP) a skladována. Kompletní redukce molekuly atmosférického (tripletového) kyslíku může být popsána sledem čtyř rovnic:



Reakce dýchacího řetězce probíhají v aktivním centru enzymu cytochromoxidázy. Tento cytochrom, k jehož funkci je nezbytná měď, má velkou afinitu ke kyslíku a efektivně ho tak odstraňuje z tkání za uvolňování energie. Dílčí produkty reakce zůstávají na cytochromoxidázu navázané a okolnímu prostředí tak nejsou škodlivé.

Nejsilnějším známým oxidačním činidlem v biologických systémech je hydroxylový radikál. Uvolňuje se nejen při redukcí peroxidu vodíku, ale také při reakci peroxidu vodíku se superoxidem nebo ionty některých kovů (měď, železo) v redukovaném stavu. Jeho vysoká účinnost a pohotovost k interakcím s organickými lipidy je částečně omezena jeho velmi krátkým biologickým poločasem. Právě při tvorbě hydroxylového radikálu se uplatňuje peroxid vodíku,

který ač sám není radikálem, je důležitým zástupcem ROS. Přímě s organickými makromolekulami reaguje poměrně pomalu, ale v přítomnosti přechodných kovů dochází k tzv. Fentonově reakci a uvolňuje se hydroxylový radikál. Dále je peroxid vodíku díky svému neionizovanému stavu schopný prostupovat hydrofobními membránami, např. se uvolňovat z mitochondrií do okolních buněčných kompartmentů. (2) Vlastností superoxidu je schopnost přemístit elektron z jedné molekuly na druhou a tak se vlastně oxidovat i redukovat zároveň za produkce peroxidu vodíku a kyslíku. Tato reakce se nazývá dismutace. Dismutace je v biologických organismech ještě urychlována enzymem superoxiddismutázou.

### 1.1.2. Reaktivní formy dusíku (RNS)

<b>Volné radikály</b>	<b>Látky, které nejsou volnými radikály</b>
oxid dusnatý, NO <sup>•</sup>	nitrosyl, NO <sup>+</sup>
oxid dusičitý, NO <sub>2</sub> <sup>•</sup>	nitroxid, NO
	kyselina dusitá, HNO <sub>2</sub>
	oxid dusitý, N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
	oxid dusičitý, N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>
	nitronium, NO <sub>2</sub> <sup>+</sup>
	peroxynitrit, ONOO
	alkylperoxynitrit, ROONO

Zdroj: (1)

Oxid dusnatý vzniká v cytosolu buněk z argininu za katalýzy enzymem NO-syntázou. Jako endotelem tvořený relaxační faktor se účastní regulace krevního tlaku, podílí se na inhibici agregace a adheze krevních destiček a důležitou úlohu hraje i jako signální molekula v nervovém systému. Ve tkáních má biologický poločas pouze několik sekund, protože je pohotově vychytáván erytrocyty a jinými hemovými bílkovinami. Reakcí se železem hemoglobinu vzniká methemoglobin a nitrát. Z jiných hemových bílkovin uvedme např. guanylátcyklázu, jejímž prostřednictvím se NO účastní relaxace buněk hladkého svalstva. Ve fyziologických koncentracích a podmínkách reaguje NO s většinou biomolekul včetně kyslíku pomalu, výjimku tvoří přechodné kovy



a volné radikály. Metabolity NO jsou však sloučeninami velmi reaktivními a za určitých okolností také toxickými.

### 1.1.3. Fyziologické a patologické účinky RONS v organismu

Jak již bylo zmíněno, volné radikály jsou přirozenou součástí všech živých organismů a bez jejich přítomnosti by nemohla probíhat řada životně důležitých pochodů. Nelze na ně tedy nahlížet jen jako na spouštěče a mediátory patologických reakcí, ale spíše na systém, který, pokud je v rovnováze s se systémem antioxidačním, má v organismu své nezastupitelné místo. Již byla řeč o dýchacím řetězci, při kterém jsou generovány mnohé ROS. Dalším polem, kde se volné radikály uplatňují je antibakteriální obrana zprostředkovaná neutrofilními leukocyty a makrofágy. V nich probíhá sled reakcí nazývaný respirační vzplanutí. Po pohlcení cizorodé částice se redukcí kyslíku začne tvořit superoxid, který je dále měněn na peroxid vodíku a hydroxylový radikál. Reakce jsou katalyzovány enzymovým komplexem NADPH-oxidázy obsahující flavocytochrom. Zároveň je přítomností mikrobiálních produktů a cytokinů indukována tvorba NO-syntázy, vzniklý NO se slučuje se superoxidem a vytváří peroxynitrit, další účinný prostředek obranné reakce organismu. Informace z poslední doby naznačují, že funkci informační sítě buňky ovlivňuje její oxidoredukční stav a ROS se účastní regulace buněčných pochodů jako tzv. druzí poslové. (1) Částečně objasněna byla zatím funkce oxidu dusnatého jakožto signální molekuly v centrálním a autonomním nervovém systému.

Mechanismem, kterým volné radikály působí patologicky na organismus, je především strukturální poškození lipidů, nukleových kyselin a proteinů. Informace o těchto pochodech vědci shromažďují již několik desítek let a jejich další prohlubování a hledání vztahů s různými chorobnými stavy je předmětem rozsáhlého výzkumu dodnes. Nejlépe je pravděpodobně popsána působení RONS na lipidy. Proces lipidové peroxidace je výsledkem tří na sebe navazujících kroků: iniciace, propagace a terminace. Volný radikál odejme vodík z postranního metylenového řetězce polynenasycené mastné kyseliny membrány nebo lipoproteinu. Zanechá tak na uhlíku nepárový elektron, který reaguje s kyslíkem a vzniklé peroxylové a alkoxylové radikály pak dál pokračují

v řetězové reakci, která vede ke zvýšení membránové fluidity, poruše její integrity a inaktivaci membránově vázaných receptorů a enzymů. Méně známý je mechanismus působení RONS na nukleové kyseliny, které jsou substrátem reakcí vedoucích k mutagenезi, karcinogenезi a buněčné smrti. Také proteiny vykazují konformační změny po vystavení působení volných radikálů, v takovém stavu jsou pak náchylnější k proteolytické degradaci ATP-dependentní a ubiquitinovou cestou.

## 1.2. Antioxidační obrana organismu

<b>Enzymové systémy</b>	
Superoxiddismutáza	
Glutathionperoxidáza	
Glutathionreduktáza	
Kataláza	
<b>Vysokomolekulární endogenní antioxidanty</b>	
Transferin	Hemopexin
Laktoferin	Ceruloplasmin
Feritin	Albumin
Haptoglobin	Chaperony
<b>Nízkomolekulární antioxidanty</b>	
Vitamin C	Koenzym Q
Vitamin E	Thioly a disulfidy
Vitamin A	Melatonin
Karotenoidy	Kyselina močová
Selen	Bilirubin
Foláty	
<b>Flavonoidy</b>	

V každém biologickém organismu za vyvážených podmínek musí být prooxidační systém v rovnováze se systémem antioxidačním. Ten je v organismu představován několika enzymovými systémy, dále vysokomolekulárními a nízkomolekulárními látkami endogenní povahy nebo s potravou přijímanými.

Z antioxidačních enzymů jmenujme jako první superoxiddismutázu (SOD). Tento enzym se vyskytuje ve všech buňkách organismu a to ve třech isoformách, které se liší ionty kovů obsažených v molekule, stabilitou a lokalizací v buněčných kompartmentech. Reakce, kterou SOD katalyzuje byla již popsána

výše. U pacientů s familiární formou amyotrofické laterální sklerózy byl nalezen defekt v genu kódujícím SOD a následné snížení aktivity její cytosolové formy až o 40 %. (3) Na odstranění hydroperoxidů v cytosolu a v mitochondriích se podílí několik typů glutathionperoxidázy. Glutathionperoxidázy patří do skupiny selenoproteinů – v jejich aktivním centru se nachází selenocystein, který pomocí dvou elektronů redukuje peroxid na hydroxylovou skupinu nebo vodu a sám se oxiduje na selenol. K reakci je nutný glutathion v redukovaném stavu, zpět ze stavu oxidovaného se dostává přijetím dvou elektronů z NADPH produkovaného v pentosovém cyklu. Reakce je katalyzována glutathionreduktázou. Jak je tedy zřejmé, antioxidační reakce jsou úzce propojeny s ostatními metabolickými pochody v buňce a k účinnému odstraňování volných radikálů je nutná jejich náležitá souhra. Poslední výzkumy ukazují, že před peroxidací lipidů chrání buněčné struktury také glutathiontransferázy, enzymy, které se podílejí na metabolizaci xenobiotik. V peroxisomech všech buněk těla najdeme enzym katalázu, který se v tomto buněčném kompartmentu účastní inaktivace  $H_2O_2$ .

Podstatou mechanismu zástupců různorodé skupiny vysokomolekulárních endogenních antioxidantů je v podstatě jejich schopnost vazby přechodných prvků – železa a mědi. Tyto kovy jsou silným spouštěčem radikálových reakcí vedoucích k poškození buňky. Pokud jsou ovšem navázány na některé makromolekuly, jejich oxidoredukční vlastnosti se změňjí a nejsou již dál pro buňku nebezpečné. Do této skupiny řadíme např. transferin, laktoferin a feritin, proteiny účastnící se transportu a skladování železa. Haptoglobin vycytává extracelulární hemoglobin, hemopexin váže uvolněný hem. Do metabolismu mědi zasahuje ceruloplasmin. Postupně je pozornost upírána na mnohé další buněčné glykoproteiny a jejich podíl na antioxidační obraně organismu je pozvolna objasňován.

V dalším textu se budu podrobněji věnovat zástupcům skupiny nízkomolekulárních antioxidantů a skupině flavonoidů.

## **2. Speciální část**

### ***2.1. Nízkomolekulární antioxidanty***

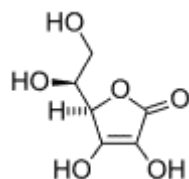
#### **2.1.1. Vitamin C**

Vitamin C neboli kyselina askorbová je ve vodě rozpustný vitamin. Kořeny jeho objevování sahají hluboko do historie. Minimálně již v 16. století byl znám pozitivní účinek některých potravin na tehdy rozšířené kurděje, ale k tomu, aby byl izolován a přesně chemicky determinován, muselo lidstvo ještě několik století počkat. První, komu se podařila izolace vitamínu C, byl v letech 1928 až 1933 maďarský výzkumný tým pod vedením Josepha L. Svirbelyho a Alberta Szent-Gyorgyiho, ti ho také definovali jako kyselinu askorbovou. Ve stejném období nezávisle na nich uspěl i Američan Charles Glen King. Zhruba o desetiletí později, v letech 1933 - 1934, spatřil světlo světa první synteticky vyrobený vitamin C a to díky britským chemikům Siru Walter Norman Haworthovi a Siru Edmundu Hirstovi. Walter Haworth byl roku 1937 za tento objev oceněn Nobelovou cenou.

Většina rostlin i živočichů je schopna si sama vitamin C vyrábět. Člověk společně s dalšími primáty, morčaty, kaloni, ptáky, rybami a bezobratlými postrádá enzym L-gulonolaktonoxidázu nutný k syntéze kyseliny askorbové, musí ji proto přijímat potravou.

#### **Chemická struktura**

Molekula kyseliny askorbové je svojí strukturou blízká glukóze, ze které také u většiny savců vzniká.



**kyselina askorbová**

## Výskyt a význam

Kyselina askorbová je poměrně bohatě zastoupena v běžných součástech naší stravy. Nejbohatšími přírodními zdroji jsou ovoce a zelenina, např. citrusové plody, rajčata, brambory, brokolice, černý rybíz, jahody, šípky nebo paprika, ale nezanedbatelné množství vitamínu C je obsaženo i v potravinách živočišného původu. Zvířata, která syntetizují vlastní kyselinu askorbovou, ji skladují v játrech nebo ledvinách, tyto orgány se tedy stávají jejím zdrojem, naopak svaly nebo tuk, které tvoří většinu západní masité diety, jsou na ni chudé. Důležitým faktorem ovlivňujícím obsah vitamínu C v přirozených zdrojích je jejich skladování a další zpracování. Vaření, dlouhodobé skladování za pokojové teploty nebo jakékoliv postupy, kdy je potravina ošetřena pomocí vysoké teploty výrazně snižují její obsah kyseliny askorbové a celkovou antioxidační kapacitu. Naopak při hlubokém zmrazení je tento pokles minimální.

Důležitým zdrojem vitamínu C v počátcích života lidského jedince je mateřské mléko. Obsahuje až čtyřikrát více vitamínu C než mléko kravské, které je základem pro výrobu náhradních mléčných přípravků.

V lidském organismu se kyselina askorbová uplatňuje v hydroxylačních reakcích, kde slouží jako donor elektronů a sama se oxiduje na kyselinu dehydroaskorbovou. Jedná se například o hydroxylaci prolinu a lysinu v syntéze kolagenu. Při deficitu vitamínu C dochází k rozvoji kurdějí, onemocnění pojivové tkáně projevujícím se krvácením z dásní a následnou ztrátou zubů, petechiemi na sliznicích, krvácením do kůže, svalů nebo kloubů a poruchami krvetvorby. Bez léčby vedou kurděje ke smrti pacienta, ale protože kauzální terapií je pouze podávání obrovských dávek vitamínu C, je úmrtí v důsledku kurdějí v dnešní době velmi výjimečné.

Do metabolismu tyrosinu se kyselina askorbová zapojuje na několika etážích. Při jeho odbourávání udržuje kovové kofaktory reakcí, měď a železnaté ionty, v redukováném stavu. Při tvorbě adrenalinu z tyrosinu je potom nezbytná pro  $\beta$ -hydroxylaci dopaminu. I  $7\alpha$ -hydroxylace, počáteční krok syntézy žlučových kyselin, vyžaduje přítomnost kyseliny askorbové. Dále se uplatňuje při syntéze karnitinu, uvolňování kortikosteroidů a zvyšuje vstřebávání železa v zažívacím traktu. (4)

Kyselina askorbová je hlavní ve vodě rozpustný antioxidant. Je schopná aktivně vyčtyávat reaktivní kyslíkaté i dusíkaté reaktivní sloučeniny jako jsou např. superoxid, singeltonový kyslík, peroxyinitrit, peroxylové a nitroxidové radikály a tak chránit ostatní buněčné substráty před oxidativním poškozením. Má dvě vlastnosti, které ji činí ideálním antioxidantem. První je nízký jednoelektronový redukční potenciál jak askorbátu tak jeho jednoelektronového oxidovaného produktu - askorbylového radikálu, který těmto sloučeninám umožňuje reagovat v podstatě se všemi fyziologicky dostupnými oxidačními činidly. Druhou vlastností nezbytnou pro antioxidantní působení vitamínu C je stabilita a nízká reaktivita askorbylového radikálu, který vzniká po sloučení askorbátu s reaktivními formami kyslíku a dusíku. Tento askorbylový radikál se ihned mění buď na dehydroaskorbát nebo je redukován zpět na askorbát pomocí NADPH-dependentní semidehydroaskorbátreduktázy. Dehydroaskorbová kyselina, která tedy vzniká po odnětí dvou elektronů z molekuly askorbové kyseliny, může být opět vrácena do redukováného stavu účinkem enzymů obsahujících glutathion nebo selen. Vitamin C působí také jako koantioxidant, protože dokáže regenerovat oxidační produkty tokoferolu. Tato schopnost se jeví jako velmi významná, in vitro experimenty prokázaly, že  $\alpha$ -tokoferol se bez přítomnosti těchto koantioxidančních činidel chová jako prooxidant. Skutečné vztahy mezi vitamínem E a C v organismu však zatím zůstávají neprobádané.

Poslední in vitro výzkumy týkající se vlastností vitamínu C odhalily jeho sklon reagovat prooxidačně v přítomnosti přechodných kovů jako je měď nebo železo. Redukované kovové ionty jsou schopny reagovat s hydrogenperoxidem za vzniku vysoce reaktivních hydroxylových radikálů nebo přímo poškozovat lipidové struktury. Pro toto působení kyseliny askorbové v lidském organismu však žádné přesvědčivé důkazy zatím neexistují. (5)

Pro doporučený příjem vitamínu C pro muže a ženy v produktivním věku v České republice platí hodnota 75 mg/den, doporučená výživová dávka pro průměrného obyvatele ČR činí 78,8 mg/den. Spotřeba vitamínu C se zvyšuje při nadměrné fyzické i psychické zátěži, abúzu drog a alkoholu, u některých nemocí a infekcí, o 50% by se měl zvýšit doporučený příjem u kuřáků, u kterých dochází ke snížené absorpci a zvýšenému obratu kyseliny askorbové. (6)

V roce 1999 byl v American Journal of Clinical Medicine publikován článek amerických vědců, kteří navrhovali přehodnotit doporučenou denní dávku

vitaminu C pro zdravé dospělé nekuřáky. Do té doby činila v Americe 60 mg na den, při předpokládané 85% absorpci to měla být dávka dostatečná pro prevenci skorbutu. Autoři článku se ale soustředili i na jiné pozitivní dopady vitaminu C na organismus, např. jeho roli v prevenci chronických chorob jako jsou rakovina, kardiovaskulární choroby nebo katarakta a navrhli zvýšit doporučenou denní dávku vitaminu C na dvojnásobek, tedy 120 mg. (5) Na základě výsledků této a jiných prací byly v USA na začátku tisíciletí stanoveny nové doporučené dávky vitaminu C - 90 mg/den pro dospělé muže a 75 mg/den pro dospělé ženy všech věkových kategorií. Díky širokému poli účinků vitaminu C ho mnoho lidí konzumuje v dávkách mnohokrát převyšujících doporučené. Práce, které se zabývaly případnými nežádoucími účinky takto vysokých dávek, se shodly na tom, že denní dávka kyseliny askorbové do 2000 mg by neměla běžného jedince ohrozit. Přesto však platí doporučení, že zdraví lidé by neměli pravidelně takové množství přijímat. (7)

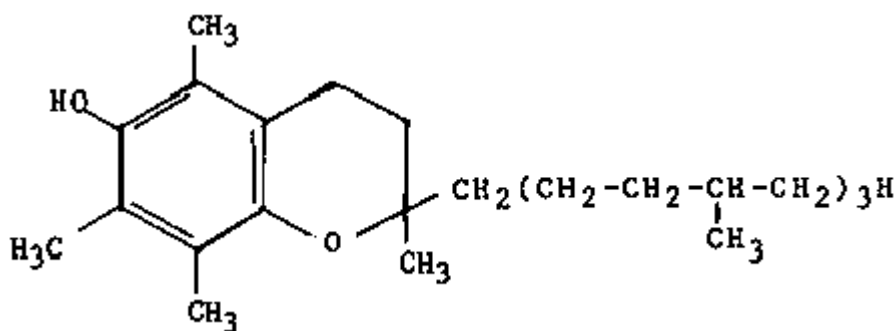
Pro srovnání zde uvádím výsledky práce Katherine Milton (8), která porovnávala dietní zvyky člověka a velkých primátů. Jak již bylo řečeno, primáti stejně jako člověk ztratili schopnost vytvářet vlastní vitamin C a musí ho tedy přijímat s potravou. Autorka uvádí, že velcí primáti, v závislosti na druhu a pohlaví, zkonzumují denně od 2 do 6 g kyseliny askorbové, což je v porovnání s denní doporučenou dávkou pro člověka až tisíckrát více. Samozřejmě existují rozdíly v zažívacím traktu velkých primátů a člověka, ale ze všech živočišných druhů nám je jejich anatomie nejbližší. Předci člověka, stejně tak jako dnešní primáti, se živili především čerstvými plody nebo listy rostlin, dnes je velká část ovoce a zeleniny, které přijímáme, tepelně opracována, což během vývoje vedlo ke změnám proporcí zažívací soustavy, velikosti dentice i vzezření tváře. Studujeme-li rostliny, které tvoří základ jídelníčku primátů, zjistíme, že obsahují ve velkém množství látky, které pokládáme pro zdraví člověka nezbytné. Primáti, s přihlédnutím k rozdílům ve velikosti, konzumují větší množství vitaminů, minerálů, nenasycených mastných kyselin, vlákniny a dalších významných složek potravy než člověk. Záměrem práce není snaha přizpůsobit dnešní dietní zvyky moderního člověka zvykům jeho prapůvodních předků, předkládá ale názor, že bližší porozumění a poznání stravovacích návyků divokých primátů by mohlo vést k lepšímu a zdravějšímu stravování člověka.

### 2.1.2. Vitamin E

Vitamin E je tvořen skupinou směsí tokoferolů a derivátů tokotrienolu a řadí se mezi vitaminy rozpustné v tucích. V přírodě bylo nalezeno osm látek majících aktivitu vitamínu E:  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -, a  $\delta$ -tokoferol a  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - a  $\delta$ -tokotrienol. Nejširší zastoupení a nejvyšší biologickou aktivitu má D- $\alpha$ -tokoferol. O objevení vitamínu E v roce 1922 se zasloužili američtí vědci Herbert Evans a Katherine Bishop, jméno mu dal o dva roky později Sure. Slovo tokoferol v sobě nese odkaz na jeho funkci při podpoře fertility - řecké slovo *tokos* znamená porod. Vitamin E je esenciální složkou potravy, lidský organismus tedy není schopný jeho syntézy.

#### Chemická struktura

Všechny substance řadící se do skupiny vitamínu E jsou isoprenovými substituenty 6-hydroxychromanu nebo tokolu. (4)



$\alpha$ -tokoferol

#### Výskyt a význam

Přirozenými zdroji vitamínu E jsou za studena lisované rostlinné oleje, obilné klíčky, luštěniny, brokolice, špenát, růžičková kapusta, zelí, mrkev, celer a ořechy. Běžným kuchyňským zpracováním potravin i jejich hlubokým zmrazením se vitamin E z vyjmenovaných zdrojů ztrácí. V zažívacím traktu se vstřebává pouze za přítomnosti tuků, v krvi je transportován ve vazbě na lipoproteiny a jeho zásoby jsou skladovány v tukové tkáni. K nedostatku vitamínu E vedou



onemocnění provázená poruchou vstřebávání tuků, např. jaterní cholestáza, cystická fibróza nebo stav po resekci střeva, a odchylky ve spektru lipoproteinů jako je abetalipoproteinémie.

Dokud nepoznáme celou šíři projevů vitamínu E, bude těžké stanovit jeho doporučenou dávku. V ČR nyní činí pro průměrného obyvatele 12,5 mg/den. (6) Je indikován při infertilitě, atrofii sliznic, neurastenii, degeneraci kloubů, onemocnění kůže, malabsorpci, dlouhodobé parenterální výživě, myopatiích, cystické fibróze a dalších stavech. Nežádoucí účinky byly pozorovány při parenterální aplikaci předčasně narozeným dětem.

Vitamin E svými výraznými antioxidačními vlastnostmi chrání polyenové mastné kyseliny před peroxidací, což je důležité pro stabilitu buněčných i nitrobuněčných membrán a tedy celkovou integritu buňky. Tokoferoly zasahují do řetězových reakcí volných kyslíkových radikálů a po přenesení vodíku z jejich fenolové skupiny na peroxidovanou polyenovou kyselinu můžou obnovit svůj antioxidační potenciál reakcí s kyselinou askorbovou nebo glutathionem. Pokud nedojde k regeneraci, vitamin E se z těla ztrácí po spojení s kyselinou glukuronovou žlučí.

Ve vysokých koncentracích je  $\alpha$ -tokoferol schopný zabraňovat adhezi trombocytů, za tento efekt je pravděpodobně zodpovědné zmenšení a snížení počtu destičkových pseudopodií. Inhibuje také buněčnou proliferaci a adhezivní schopnosti monocytů. Při nedostatku vitamínu E může dojít k hemolýze erytrocytů a anémii. Zdá se, že vitamin E je také nezbytný pro správný vývoj a funkci nervového a svalového systému. Zkušenosti s dětmi trpícími biliární obstrukcí nebo jinými stavy vedoucími k nedostatečné absorpci vitamínu ve střevě ukázaly, že jeho nedostatek vede k neuromuskulární poruše, která se dá zmírnit parenterální aplikací vitamínu E. Je třeba také zmínit, že vitamin E hraje nezanedbatelnou roli v mužském i ženském reprodukčním systému. Jak ukázaly četné studie na různých živočišných druzích, nedostatek vitamínu E u samců vede nejdříve k poruchám motility spermií, poté k degeneraci semenotvorného epitelu a celkovému poklesu produkce spermií. U samic pravděpodobně způsobuje poruchy ve vaskularizaci děložní sliznice a brání tak implantaci oplozeného vajíčka. (9)

Naprostá většina materiálu shromážděného o účincích a vlastnostech vitamínu E se týká převážně jen  $\alpha$ -tokoferolu. Věnujme se teď vědeckým pracím, které se snaží osvětlit charakteristiky dalších sloučenin řadících se pod vitamín E.

Tokotrienoly, dříve známé jako  $\zeta$ -,  $\epsilon$ - a  $\eta$ -tokoferoly, mají chemickou strukturu velmi blízkou tokoferolům, liší se pouze nenasyčenými vazbami v postranním isoprenoidním řetězci. Některé vlastnosti sdílejí společně s tokoferoly, ale postupně se ukazuje, že každá podskupina z rodiny sloučenin vitamínu E má i svá specifika. Tokotrienolům jsou přisuzovány silné neuroprotektivní, antioxidační a protinádorové účinky, v mikromolekulárním množství jsou schopné suprimovat HMG-CoA reduktázu, klíčový enzym pro syntézu cholesterolu a snižovat tak jeho hladinu. Má se také zato, že tokotrienoly jsou silnějšími antioxidanty než tokoferoly, protože díky jejich nenasyčeným vazbám snáze pronikají do tkání obsahujících lipidy jako jsou např. játra nebo mozek. Narozdíl od tokoferolů byl u tokotrienolů prokázán inhibiční vliv na růst nádorových buněk prsních žláz.

Jak již bylo řečeno, kvantitativně největší zastoupení v lidském organismu má  $\alpha$ -tokoferol. Ale formou, která např. v americké dietě naprosto převažuje, je  $\gamma$ -tokoferol. O něm je známo nesrovnatelně méně informací, dokonce ani není zahrnut v současných dietních doporučeních. V několika následujících řádcích si tedy přibližme alespoň základní charakteristiky této formy vitamínu E.

Chemická struktura tokoferolů se liší množstvím methylových skupin v pozicích 5 a 7 chromanolového kruhu. U  $\gamma$ -tokoferolu narozdíl od  $\alpha$ -tokoferolu zůstává pozice 5 neobsazena. V tenkém střevě jsou oba tokoferoly absorbovány ve stejném množství, zabudovány do chylomikronů a transportovány do periferních tkání jako jsou svaly, tuková tkáň nebo mozek a do jater. V játrech je přednostně využíván  $\alpha$ -tokoferol a je inkorporován do VLDL částic, kdežto valná část  $\gamma$ -tokoferolu je pomocí cytochromu P450 metabolizována na hydrofilní katabolit a vyloučena močí. Toto zjištění odpovídá skutečnosti, že nejvyšší koncentrace  $\gamma$ -tokoferolu se nacházejí v kůži, svalové, tukové tkáni a v žilách - tedy tkáních, kam se chylomikronové částice dostanou aniž by podstoupily metabolické úpravy odehrávající se v játrech. V lidské plasmě jsou koncentrace  $\gamma$ -tokoferolu 4 - 10krát nižší než koncentrace  $\alpha$ -tokoferolu a je prokázáno, že při

substituci  $\alpha$ -tokoferolem se jeho koncentrace ještě snižuje. Naopak při substituci  $\gamma$ -tokoferolem rostou hladiny obou sloučenin.

Potravinami bohatými na  $\gamma$ -tokoferol jsou hlavně rostlinné oleje (kukuřičný, sezamový, sójový) a ořechy. Kromě antioxidačních účinků je  $\gamma$ -tokoferol schopný zabránit rozvoji zánětu tím, že inhibuje syntézu prostaglandinu  $E_2$  a tlumí aktivitu COX-2. Tyto vlastnosti  $\alpha$ -tokoferol ve srovnatelných koncentracích nevykazuje.

Některé studie se zabývaly vztahem mezi  $\gamma$ -tokoferolem a některými chronickými onemocněními. Ukázalo se, že hladina  $\gamma$ -tokoferolu v lidské plasmě negativně koreluje s výskytem kardiovaskulárních chorob a tento vztah neplatí pro  $\alpha$ -tokoferol. Výsledky posledních epidemiologických studií také naznačují možný protektivní efekt  $\gamma$ -tokoferolu proti rakovině prostaty.

### **2.1.3. Vitamin A**

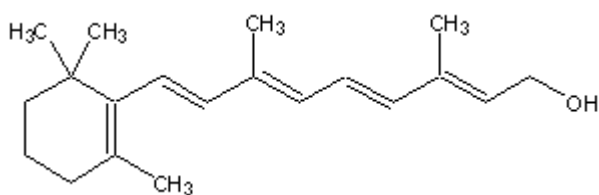
V lidském organismu jsou hlavními nositeli aktivity vitamínu A tři sloučeniny: retinol, retinal a kyselina retinová. Již ve starověku bylo známo, že konzumace jater živočichů dokáže vyléčit šeroslepost, ale až v průběhu 20. století se vědci začali podrobněji zabývat strukturou vitamínu A jeho zapojením do biologických pochodů. Vitamin A byl postupně izolován z vaječného žloutku, tukové tkáně živočichů či z rybiho oleje, byla objevena spojitost mezi  $\beta$ -karotenem vyskytující se v rostlinách a vitamínem A a v polovině 30. let 20. století Wald objasnil roli vitamínu A v pochodech zajišťujících vidění. Za tento objev byl roku 1967 oceněn Nobelovou cenou.

#### Chemická struktura

Retinol je alkohol obsahující ve své molekule šestičlenný  $\beta$ -jononový kruh s bočním řetězcem složeným ze dvou isoprenoidních jednotek. (6) Díky čtyřem dvojným vazbám v postranním řetězci se sloučeniny s aktivitou vitamínu A mohou vyskytovat v cis i trans konfiguraci, přičemž každá z těchto konfigurací může nést odlišné biologické vlastnosti. Cis isomery jsou méně stabilní a mohou přecházet v all-trans isomery, příkladem je řetězec reakcí probíhající

v receptorových buňkách retiny při percepci světla. 11-cis-retinal se specificky váže na zrakový protein opsin a vytváří tak rhodopsin. Dopad světla způsobí přesmyk cis formy v all-trans-retinal a odštěpení opsinu a konformační změny v molekule fotoreceptoru vedou k otevření vápenatých kanálů a vyslání nervového impulsu do vyšších nervových center.

V organismu savců může docházet ke konverzi retinolu na retinal a opačně, ale přeměna aldehydové formy na kyselinu retinovou je nezvratný proces.



retinol

### Výskyt a význam

Vitamin A může být získáván jak z živočišné stravy ve formě retinyl esterů a následně změněn na retinol, nebo ze stravy rostlinné, ve které se nacházejí jeho prekurzory - karotenoidy, pravděpodobně nejrozšířenějšími pigmenty v rostlinné říši. Ne všechny však v sobě nesou potenciální aktivitu vitamínu A. Z této skupiny ji vykazují především  $\beta$ -karoteny,  $\alpha$ -karoteny,  $\gamma$ -karoteny,  $\beta$ -zeakaroteny a v malém procentu další zástupci. Z živočišné stravy je vitamin A přítomen hlavně v rybím tuku, vnitřnostech (hlavně v játrech), vejcích a mléku. (Samořejmě v mléce se sníženým obsahem tuku je snížen i obsah samotného vitamínu A jakožto vitamínu rozpustného v tucích.) V těle jsou karotenoidy přeměňovány na retinoidy s různým stupněm aktivity vitamínu A, ale platí, že jako zdroj vitamínu A je  $\beta$ -karoten asi šestkrát méně účinný než samotný retinol. Proces přeměny  $\beta$ -karotenu na retinol může být stimulován hormony štítné žlázy, zinkem, vitamínem E nebo nenasycenými mastnými kyselinami přítomnými v dietě. (9)

Výživová doporučená dávka vitamínu A pro průměrného obyvatele České republiky je nyní stanovena na 859  $\mu\text{g}/\text{den}$ . Pro středně těžce pracující

muže ve věku 35 - 59 let činí 1000 µg/den, pro ženy téže kategorie potom 900 µg/den. Nejvyšší tolerovatelnou dávkou retinolu pro muže i ženy je hranice 3000 µg/den, u těhotných a kojících žen se může v závislosti na věku ještě snížit. (6) Po vyčerpání kapacity buněčného retinol-vázacího proteinu jsou buňky v těle vystaveny působení volného retinolu, který je pro ně toxický. K hypervitaminóze A dochází ale výjimečně, evidované případy se vyskytly u osob, které přijímali nadměrné množství vitaminových preparátů nebo u pacientů, jejichž kožní onemocnění vyžadovalo dlouhodobou terapii vysokými dávkami retinoidů. Toxicita retinolu závisí na fyzikální formě, ve které je podáván. Nejnížší dávky postačí k vyvolání příznaků hypervitaminózy, pokud je retinol podáván v emulzifikované, ve vodě rozpustné formě nebo v pevném stavu, takto podaný je až desetkrát toxičtější než v olejové formě. Zajímavou skutečností je, že vitamin D chrání organismus před toxicitou retinolu, osoby, které užívaly kombinaci vitaminů A a D tolerovaly vyšší dávky retinolu. (10) Mezi příznaky intoxikace vitaminem A patří kožní erytém a deskvamace, hepatomegalie, bolesti břicha, nauzea a ztráta chuti k jídlu, nejzávažnějším projevem u dětí je předčasně uzavření epifýz a zástava růstu. Excesivní příjem vitaminu A v raných stádiích těhotenství vede (pravděpodobně díky zvýšené citlivosti buněk nervové lišty k retinolu) ke vzniku vrozených vývojových vad. Kyselina retinová vykazuje nižší toxicitu než retinol nebo retinal, protože není v těle skladována.

Zajímavý je v poslední době studovaný vztah sérových hladin β-karotenů a retinolu a rozvoje stařecké osteoporózy. Ukazuje se, že ženy s rozvinutou osteoporózou vykazují nižší sérové koncentrace β-karotenů a že hladina retinolu v plasmě pozitivně koreluje s množstvím kostní masy. Obě tyto sloučeniny tedy zatím neznámým mechanismem působí protektivně na kostní masu. Na druhé straně další studie prokázaly, že negativní vliv na rozvoj osteoporózy nemá jen nedostatek retinolu, ale i jeho nadbytek. Nezdá se tedy vhodné provádět případnou suplementaci přímo retinolem, ale využít raději β-karoteny, u nichž předávkování nehrozí. (11)

Jsou čtyři hlavní biologické okruhy v lidském organismu, ve kterých se vitamin A uplatňuje: zrak, diferenciací epitelálních buněk, růst a reprodukce.

Pochody, které se odehrávají v tyčinkách při dopadu světelného paprsku, byly již popsány výše. Ačkoliv čípky zprostředkovávající barevné vidění také obsahují určité množství retinaldehydu, nejcitlivější známkou rozvíjejícího se

deficitu vitamínu A je právě šeroslepost. K normální adaptaci očí na tmou je třeba minimální plasmatická koncentrace retinolu 1,4  $\mu\text{mol/l}$ , avitaminóza se vyvíjí díky zásobám vitamínu v játrech poměrně pomalu. (6) Ke zhoršenému vidění ve tmě se přidává xeroftalmie, takto poškozené oko je pak mnohem náchylnější k infekcím jako např. trachom a nedostatek vitamínu A může touto cestou vést až k úplnému oslepnutí.

Nezbytnost vitamínu A při diferenciaci buněčných elementů je snadno pozorovatelná při jeho nedostatku. Tkáň s rychlou obnovou buněk, jako je kůže nebo střevní výstelka, reagují na jeho nedostatek jako první. V celém organismu dochází k redukci hlenotvorných buněk, cylindrický epitel je nahrazován vrstvami rohovějících buněk. Kůže se stává suchou, olupuje se, vlasové folikuly rohovatí. Poruchy diferenciaci střevního epitelu mohou vyústit v průjmy. Organismus je celkově náchylnější k infekcím, zpomaluje se i hojení ran.

Mechanismus, kterým sloučeniny vitamínu A ovlivňují diferenciaci buněk, můžeme sledovat na příkladu přeměny myeloidní buňky na granulocyt. Retinol, retinal nebo kyselina retinová se po vstupu do buňky naváží na přenašečové proteiny nebo na specifické receptory z rodiny glukokortikoidních a thyroideálních. Takto se dostanou do jádra, kde zásahem do promotorové části genu aktivují transkripci. Zajímavé je, že často zasahují na stejných místech genu, jako komplex trijodtyroninu s receptorem. Tak je produkce některých proteinů kontrolována zároveň vitamínem A i trijodtyroninem.

Normální cyklus růstu, zrání a degenerace buněk epifyziálních chrupavek je také závislý na přítomnosti vitamínu A. Tak při jeho nedostatku dochází u dětí k zástavě růstu, byla prokázána i významná korelace sérových hladin retinolu s porodní váhou a výškou novorozence. (6)

Do reprodukčních pochodů zasahuje vitamin A na mnoha místech, především ve formě retinolu nebo kyseliny. Ve studiích provedených na zvířatech byly potvrzeny zastavení spermatogeneze, zásahy do vývoje placenty a pravděpodobně i úloha v syntéze adrenálního progesteronu.

Vitamin A je pravděpodobně pouze slabé antioxidační činidlo. Jeho pozitivní efekt spočívá v tzv. zhášení singeltonového kyslíku, který není považován za volný radikál, ale je to velmi reaktivní okysličující agens vznikající peroxidací lipidů v membránách. Vitamin A, retinoidy a karotenoidy dokážou

absorbovat energii bez chemické změny a vrátit tak excitovaný kyslík do jeho základního stavu. (6)

V další části textu se budu blíže věnovat  $\beta$ -karotenu, který jako nejrozšířenější prekurzor vitamínu A s ním sdílí některé vlastnosti společné, ale zároveň se ukazuje, že v oblasti pozitivního působení na naše zdraví, hrají  $\beta$ -karoteny i roli na vitamínu A nezávislou.

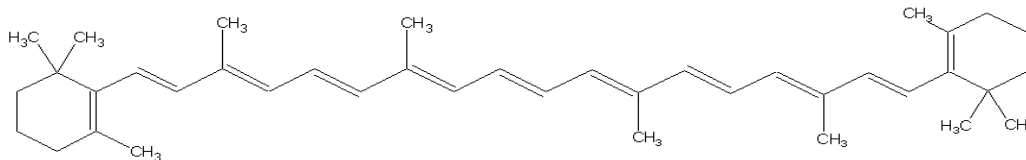
#### **2.1.4. Karotenoidy**

##### **2.1.4.1. $\beta$ -karoteny**

$\beta$ -karoteny patří do rozsáhlé skupiny karotenoidů, v přírodě běžně rozšířených pigmentů převážně žluté, oranžové nebo červené barvy. Nacházíme je hlavně v říši rostlinné, ale svoji úlohy hrají i například ve zbarvení plameňáků nebo lososů. Primáti a přežvýkavci jsou až na pár výjimek jedinými savci, kteří v těle shromažďují signifikantní množství karotenoidů - v průběhu života se jejich tuková tkáň stává žlutou díky zbarvení karotenoidy. (12) Do dnešního dne bylo v rostlinách objeveno více než 600 druhů karotenoidů. Pro člověka je hlavním dietním karotenoidem  $\beta$ -karoten, v přírodním materiálu obvykle doprovázený  $\alpha$ -karotenem a malým množstvím  $\gamma$ -karotenu. Asi poloviční podíl na koncentraci cirkulujících karotenoidů v plasmě mají  $\beta$ -karoten společně s lykopenem.

##### **Chemická struktura**

$\beta$ -karoten je tvořen dvěma molekulami retinolu spojenými na aldehydových koncích svých uhlíkových řetězců. (4) Vzhledem ke své konfiguraci podléhá jeho molekula snadno cis trans izomeraci, all-trans izomery jsou stářejší a v přirozených systémech se vyskytují častěji. Naopak v lidské plasmě převažují v lipofilních roztocích snáze rozpustné a tak i transportovatelné cis-izomery (6)



$\beta$ -karoten

### Výskyt a význam

Jak již bylo řečeno, karoteny jsou v rostlinné říši hojně zastoupená barviva. Pro člověka jejich nejdůležitější zdroje představují zelenina a ovoce, hlavně mrkev, hlávkový salát, špenát, meruňky, jablka, petržel nebo paprika. Doporučená denní dávka pro  $\beta$ -karoten není stanovena, obecně se udává, že denní příjem 2 - 4 mg, by měl být dostatečný pro udržení sérových koncentrací v hodnotách snižujících riziko chronických onemocnění, např. ICHS. (6) Dieta bohatá na ovoce a zeleninu by tak měla zaručit jeho dostačující příjem. Při naplnění tělesných zásob vitamínu A klesá rychlost jeho přeměny z  $\beta$ -karotenu, proto touto cestou nemůže dojít k hypervitaminóze A. Při vyšších dávkách karotenu se může objevit žluté zbarvení kůže. Donedávna byl  $\beta$ -karoten považován za bezpečný a prostý vedlejších účinků i ve vyšších dávkách. Nejnovější studie ovšem ukazují, že účinky vysokých dávek dosahovaných jeho suplementací si vyžadují další výzkum (viz dále).

Člověk a další primáti, na rozdíl od jiných savců, mají téměř neomezenou schopnost absorpce karotenoidů z potravy. (13) Absorbované karotenoidy jsou pak ukládány v tukové nebo jiné tkáni, jen malé množství je použito ke konverzi na vitamín A. (12) Tato vlastnost nás přivádí k otázce, jaké jiné role karotenoidy v biochemických pochodech organismu hrají.

V potravinách jsou karotenoidy pevně vázány v makromolekulárních komplexech a je nutné jejich další zpracování v žaludku a duodenu k uvolnění z těchto vazeb. Tepelné zpracování potravy tyto vazby karotenoidů na bílkoviny rozruší a zlepšuje tak jejich využitelnost pro organismus. Následné vstřebávání je pozitivně ovlivněno přítomností tuků - pro  $\alpha$ - i  $\beta$ -karoteny je optimální již malé množství tuku, v případě luteinu je nutné dávku zvýšit.(6)



Jak již bylo řečeno, antioxidační působení karotenoidů stejně jako vitamínu A spočívá hlavně v jejich schopnosti zhášet singeltonový kyslík a měnit ho na běžný tripletový kyslík. Karotenoidy se ovšem uplatňují i zatím neznámým mechanismem při odstraňování radikálů centrovaných na uhlík a alkyloperoxylových radikálů v lipidech, pravděpodobně za přispění tokoferolu. (1) Antioxidační působení karotenoidů a vitamínu E se doplňuje i z jiného hlediska - karotenoidy jsou aktivní při nižších koncentracích kyslíku, tokoferol při vyšších. (4)

Výsledky některých studií (Burton a Ingold) poukazují na to, že za extrémně vysokých parciálních tlaků kyslíku a při vysoké koncentraci karotenoidů, se tyto chovají prooxidačně. (13) Při bližším přezkoumání výsledků této studie se ovšem ukazuje, že může jít spíše o pokles antioxidační aktivity než o prooxidační působení. Parciální tlaky kyslíku, se kterými se v této studii pracovalo ovšem několikanásobně překračovaly tlaky běžně se v organismu vyskytující.

Výzkumy týkající se dietních doporučení spojují vyšší konzumaci  $\beta$ -karotenu a vitamínu A s nižším výskytem některých druhů rakoviny. (14) Na přelomu 20. a 21. století byly publikovány klinické výsledky intervenčních studií, ve kterých byl podáván  $\beta$ -karoten v čisté formě jako suplement. Tyto výsledky nenaplnily očekávání, která se do preventivního podávání  $\beta$ -karotenu vkládaly. Mezi lety 1985 a 1993 proběhla ve Finsku tzv. ATBC study - Alpha Tocopherol, Beta Carotene Cancer Prevention Study. Zúčastnilo se jí na 29 000 kuřáků mužského pohlaví mezi 50 a 69 lety. Podle náhodného rozdělení do skupin dostávali buď 20 mg  $\beta$ -karotenu, 50 mg  $\alpha$ -tokoferolu, obojí nebo placebo. Ve skupině užívající samotný  $\beta$ -karoten byla incidence nádoru plic o 18 % vyšší než v ostatních skupinách. (14) Podobné výsledky přinesla i souběžně probíhající tzv. CARET study - the Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial. Více než 18 000 účastníků, kteří se nacházeli ve vyšším riziku onemocnění rakovinou plic, buď díky kouření nebo vystavení působení azbestu v anamnéze, byla podávána kombinace 30 mg  $\beta$ -karotenu a 25 000 retinyl palmitátu nebo placebo. Studie byla po 21 měsících ukončena pro 28 %-ní nárůst incidence rakoviny plic a 17 %-ní nárůst úmrtí v intervenované skupině. (15) Jedním z možných vysvětlení zvýšení incidence rakoviny plic u kuřáků při suplementaci vysokými dávkami  $\beta$ -karotenu je již výše nastíněné zjištění, že při vysokých dávkách v silně

oxidačním prostředí dochází k excentrickému štěpení molekuly  $\beta$ -karotenu, při čemž vznikají toxické oxidační produkty a ty mohou přispívat k rozvoji rakovinného procesu. (6)

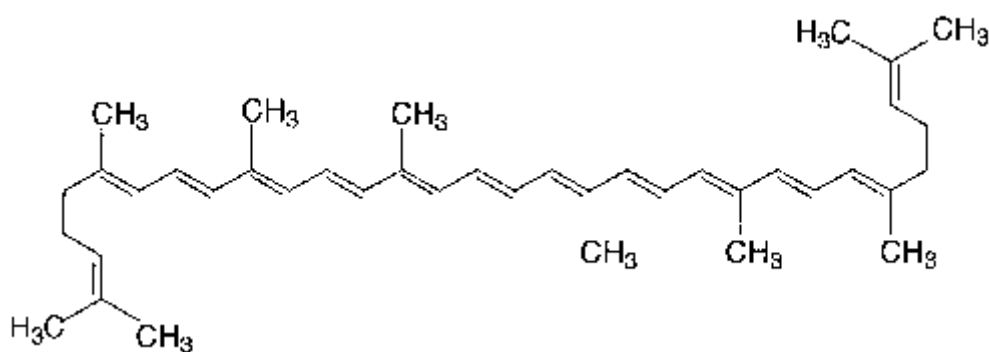
Mnoho dalších studií se zabývalo vztahem mezi obsahem karotenoidů v potravě a rizikem rozvoje kardiovaskulárních onemocnění. Jejich výsledky je možné shrnout takto: konzumace potravy bohaté na karotenoidy je spojena s nižším rizikem rozvoje KVO, není však jasné, zda toto snížení je možno přičíst konkrétnímu zástupci skupiny karotenoidů, jejich spolupůsobení, nebo jiným, dosud nepoznaným faktorům. Suplementace  $\beta$ -karotenem jakožto preventivním prostředkem proti vzniku KVO není vhodná. (6)

#### **2.1.4.2. Lykopen**

V předchozím textu byl již tento červený pigment ze skupiny karotenoidů několikrát zmíněn, ráda bych o něm ještě podala ucelenější informaci. Jedná se o významný antioxidant, v poslední době je podrobně zkoumán jeho možný vliv na prevenci civilizačních chorob.

#### **Chemická struktura**

Lykopen je acyklický karotenoid tvořený 8 isoprenovými jednotkami. Za svoji barvu vděčí mnoha dvojným vazbám mezi atomy uhlíku, díky nimž je schopný absorbovat světlo o dlouhých vlnových délkách. Nemá aktivitu provitaminu A protože jeho molekula neobsahuje  $\beta$ -iononový kruh.



lykopen

### Výskyt a význam

Základním dietním zdrojem lykopenu pro člověka jsou rajská jablka a produkty z nich vyrobené. Dále je přítomen také ve vodním melounu, růžovém grapefruitu nebo papáji. Platí, že homogenizace a tepelné opracování rajských jablíček zvyšuje vstřebatelnost a využitelnost lykopenu díky disociaci jeho vazeb na proteiny. (6)

Lykopen je účinným scavengerem volných kyslíkových radikálů, dokáže reagovat i s peroxidem vodíku a oxidem dusičitým, v těchto případech je jeho účinnost dvakrát vyšší než účinnost  $\beta$ -karotenu. (6)

V rámci studií protektivního efektu stravy bohaté na karotenoidy v prevenci rozvoje civilizačních onemocnění byla pozornost soustředěna i na lykopen. Především ve spojení s prevencí rakoviny prostaty, čemuž napovídaly výsledky některých studií a vyvolaly tak naděje v odborné i laické veřejnosti. Studie z poslední doby ovšem tento předpoklad nepotvrdily. V roce 2007 byly uveřejněny výsledky práce Petersové a kol., kteří sledovali asociaci mezi hladinou karotenoidů včetně lykopenu na počátku široké studie Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian Cancer Screening Trial a pozdějším případným rozvojem rakoviny prostaty. Nejenže neprokázali žádnou souvislost mezi hladinou lykopenu a rozvojem nemoci, ale z výsledků vyplynulo, že vysoká sérová hladina  $\beta$ -karotenu je asociována dokonce se zvýšeným rizikem rozvoje agresivního typu rakoviny prostaty. (16)

#### **2.1.4.3. Ostatní karotenoidy**

Do velmi široké skupiny karotenoidů kromě již zmíněných  $\beta$ -karotenu a lykopenu řadíme např.  $\alpha$ -karoten,  $\gamma$ -karoten,  $\beta$ -kryptoxantin, lutein, zeaxantin, astaxantin, neoxantin a další. Tyto látky, o nichž je zatím poměrně málo známo, mohou také působit jako provitaminy a antioxidanty. V lidské plasmě jsou nejčastěji zastoupenými karotenoidy  $\beta$ -karoten a lykopen, ovšem v erytocytech a mononukleárech periferní krve je nejvyšší koncentrace luteinu. V druhé polovině osmdesátých let vědci objevili, že pigment žluté skvrny retiny je tvořen dvěma podobnými karotenoidy - luteinem a zeaxantinem. (12) Žlutá skvrna neboli

macula lutea se nachází v centru lidské sítnice a je tvořena hustě inervovanými čípkami. Po 70 letech věku často dochází ke zhoršení její funkce a tak i oslabení vizu. V samém centru žluté skvrny převažuje zeaxantin, směrem k periférii se zvyšuje zastoupení luteinu. Význam makulárních karotenoidů je zatím neznámý. Spekuluje se, že mohou chránit oko před světlem modrého spektra, zvyšovat zrakovou ostrost nebo vychytávat volné kyslíkové radikály vznikající při pochodech ve fotoreceptorech. Nyní probíhají studie, které by osvětlily, zda tyto retinální karotenoidy mohou zabránit nebo alespoň snížit rychlost makulární degenerace. Jejich výsledky prozatím nepřinesly jednoznačnou odpověď.

Zdrojem luteinu a zeaxantinu je listová zelenina, brokolice, zelený hrášek, fazole, kukuřice, vaječný žloutek či jiné druhy ovoce a zeleniny. Pro výrobu potravinových doplňků se lutein a zeaxantin extrahují z okvětních lístků měsíčku zahradního.

#### **2.1.5. Selen**

Selen je poměrně vzácný stopový prvek, který je ve velkém množství pro organismus toxický, v přiměřených dávkách se však zdá být pro správný vývoj a udržení zdraví nepostradatelný. Je známo již mnoho jeho pozitivních účinků a nové studie přinášejí důkazy o dalších.

##### Výskyt a význam

V přírodě se selen nachází v půdě v rozpustné formě jako selenát nebo jako součást jiných anorganických či organických sloučenin (selenocystein, selenomethionin). Jako samostatný prvek se v půdě nevyskytuje. Přírodními zdroji pro člověka jsou potraviny jak rostlinného tak živočišného původu, obsah selenu v nich je však výrazně ovlivněn obsahem selenu v půdě, kde byly rostliny pěstovány nebo zvířata chována. Obecně můžeme uvést, že dobrými zdroji selenu jsou obiloviny (hlavně v Americe, na většině evropského území je obsah selenu v půdě nízký), maso, především játra, drůbež a mořští živočichové a některé

ořechy. Jako vůbec nejbohatší přírodní zdroj jsou uváděny para ořechy, i v nich se však obsah selenu může lišit.

Doporučený denní příjem selenu v Británii činí 75  $\mu\text{g}$  pro muže a 60  $\mu\text{g}$  pro ženy, americké doporučení zní 55  $\mu\text{g}$  pro obě pohlaví. (17) Skutečné příjmy selenu jsou ale dlouhodobě nízko pod těmito hranicemi, např. v Británii jeho příjem posledních 25 let klesá a dosahuje jen asi poloviny doporučené dávky. Podle dostupných informací nejvyšší příjem selenu ze sledovaných evropských zemí vykazují Švýcarsko a Holandsko, průměrná denní dávka se v obou zemích pohybuje kolem 70  $\mu\text{g}$ . (17) Ostatní sledované země většinou nedosahují ani hranice 55  $\mu\text{g}$  na den. Nynější doporučené denní dávky se odvíjí od množství selenu, které je třeba přijmout, aby bylo v tělesných tekutinách dosaženo koncentrací, při kterých je aktivita selendependentního enzymu glutathionperoxidázy maximální. Některé práce ale poukazují na to, že pro potřeby zdravého organismu dostačuje i aktivita nižší.

Z přijatého selenu se asi 80% vstřebá v zažívacím traktu, jeho biologická dostupnost závisí na formě, ve které je v potravině zastoupen. Roli hrají i jiné faktory, např. přítomnost těžkých kovů jako je rtuť nebo její deriváty, selen s nimi vytváří komplexy, čímž minimalizuje jejich toxicitu, ale zároveň se stává nevyužitelným pro lidský organismus.

Maximální bezpečná denní dávka selenu pro dospělého člověka byla stanovena na 400  $\mu\text{g}$ . Při plasmatické hladině větší než 100  $\mu\text{g}/\text{dL}$  dochází k rozvoji tzv. selenózy, stavu charakterizovaném gastrointestinálními příznaky, ztrátou vlasů, bílými skvrnami na nehtech, zvýšenou únavností a podrážděností a mírnou neuropatií. Otrava selenem je ale vzácná, v Americe došlo k několika případům v souvislosti s chybou v průmyslové výrobě nutričních doplňků, kdy bylo do přípravku přidáno příliš mnoho selenu. (18)

Naopak deficit selenu je pozorován v oblastech, kde je jeho obsah v půdě dlouhodobě nízký. Patří mezi ně především některé regiony v Číně, známe dvě endemická onemocnění spojená s deficitem selenu: nemoc Keshan - kardiomyopatii a nemoc Kashin-Beck - deformující artritidu. U obou se předpokládá, že nedostatek selenu je faktorem, který organismus oslabuje a činí ho tak náchylnějším k případné virové infekci nebo jiným zevním vlivům.

V zájmu dnešní vědy je spíše než takto dramatický nedostatek selenu jeho dlouhodobě snížený příjem. I ten, jak se zdá, negativně ovlivňuje mnoho

fyziologických pochodů organismu. K tomu, abychom lépe porozuměli důsledkům takového stavu, přibližme si nyní, na kterých místech a jakým způsobem se selen zapojuje do chodu celého organismu.

Jako selenocystein se selen stává součástí selenoproteinů, bílkovin, které mají důležité strukturální nebo enzymatické funkce. Nejznámějším příkladem enzymu, jehož je selen zásadní součástí a bez něž nemůže enzym vykonávat svoji funkci, je glutathionperoxidáza. Ta je schopna redukovat peroxid vodíku a jiné volné radikály na neškodné substance a chránit tak membránové fosfolipidy před oxidativním poškozením. Dalšími enzymy obsahujícími selenocystein jsou např. thioredoxinreduktáza nebo iodothyronindeiodináza. Je známo kolem 35 dalších selenoproteinů, jejichž funkce však zůstává z velké části nejasná.

Velké zastoupení selenu nacházíme v orgánech vykonávajících imunitní funkce, např. v játrech, slezině nebo lymfatických uzlinách. Tento fakt podporuje názory, že selen hraje významnou roli v udržování imunokompetence organismu. Bylo pozorováno, že u lidí s nízkou hladinou selenu dochází k selhávání imunity jak v buněčné tak v humorální složce. Naopak suplementace selenem měla efekt imunostimulační, dávka 200 µg denně vedla ke zvýšení odpovědi imunitního systému na antigenní stimuly, urychlilo se vyžívání cytotoxických lymfocytů a vzrostla jejich schopnost eliminovat nádorové buňky, významné zvýšení bylo pozorováno i u aktivity NK buněk. (17)

Pokud je myši s nízkou hladinou selenu v krvi injikován do krevního oběhu benigní kmen Cocksackie viru, brzy dochází k mutacím ve virovém genomu a kmen se stává virulentním a způsobuje myokarditidu s rysy podobnými jako jsou známy u lidí. (17) Mutace pak již zůstává v genomu fixována, protože pokud jsou tímto virem následně infikovány myši s normální hladinou selenu, myokarditida se u nich rozvine také. Cocksackie virus byl izolován z krve a tkání lidí s onemocněním Keshan, vědci proto předpokládají, že tato endemická kardiomyopatie se vyvinula podobným způsobem, který popsaly pokusy na myších. Selenový deficit pravděpodobně ovlivňuje virový genom a vede k jeho mutacím. Pokud by takové závěry byly aplikovatelné i na další skupiny virů, dal by se touto teorií vysvětlit rozmach nových kmenů viru chřipky v oblastech Číny s nízkým obsahem selenu v půdě nebo přenos HIV z opic na člověka v selendeficientní populaci Zairu. Poslední studie dokládají, že plasmatická hladina selenu u HIV infikovaných pacientů je velice důležitým faktorem

ovlivňování dalšího průběhu choroby. Stejně jako s její progresí ubývá CD4 buněk, klesá i hladina selenu. Baum a kolektiv prokázali, že pacienti se selenovým deficitem mají téměř dvacetinásobně vyšší pravděpodobnost úmrtí na příčiny spojené s HIV infekcí, než pacienti s normální hladinou. (17) Za nedostatečnou plasmatickou hladinu selenu byly v této studii považovány hodnoty pod 85 µg/l, této hranice však nedosahují ani průměrné plasmatické koncentrace naměřené v některých severoevropských zemích. U HIV pozitivních dětí existuje jasná korelace mezi nízkou hladinou selenu a rychlejší progresí choroby a zvýšenou mortalitou. V poslední době se také ukazuje, že dostatečné hladiny selenu chrání jedince infikované virem hepatitidy B či C před progresí onemocnění v hepatocelulární karcinom. (17)

Již dlouho je známa funkce selenu jako faktoru nutného pro úspěšnou reprodukci. Ve veterinární praxi je prokázána asociace mezi selenovým deficitem a idiopatickými potraty, nyní je třeba zjistit, zda stejné souvislosti platí i pro člověka. Jisté je, že selen je nezbytný pro mužskou fertilitu, je vyžadován pro syntézu testosteronu a správné formování spermatozoí.

Několik skutečností ukazuje, že mozkový metabolismus pro svoji funkci vyžaduje dostatečný přísun selenu. V období, kdy ho má organismus nedostatek, je dostupný selen přednostně transportován právě do mozku, při jeho deficienci v mozkové tkáni dochází k alteraci metabolismu neurotransmiterů. U starších osob klesající hladina selenu signifikantně koreluje se senilitou a poklesem kognitivních funkcí. Nutné je si uvědomit, že v mozkové tkáni je deficit katalázy, takže produkty peroxidace musí být odstraňovány selendependentními enzymy.

Dopad plasmatické koncentrace selenu na náladu byl předmětem několika studií. Jejich výsledky ukázaly, že nízké hladiny selenu jsou spjaty s častějším výskytem depresí, anxiety a pocitů zmatenosti či nepřátelství. Naopak dieta s bohatým zastoupením selenu vede ke zlepšení nálady.

Jak již bylo zmíněno, jedním z enzymů, jejichž aktivita závisí na přítomnosti selenu, je iodothyronindeiodináza. Tento enzym přeměňuje thyroxin na aktivní hormon štítné žlázy trijodthyronin a ačkoli je jeho funkce při hraničních koncentracích selenu poměrně dobře chráněna, současné nízké hladiny selenu v populaci by mohly thyreoidální metabolismus ovlivnit. Zvláště nebezpečná je kombinace deficitu jodu a selenu vedoucí k hypothyreoidismu manifestujícímu se jako myxedematózní kretenismus.

Existující teoretické předpoklady, že dostatečná hladina selenu by mohla organismus chránit před kardiovaskulárními nemocemi, vycházejí ze schopnosti glutathionreduktázy bojovat proti oxidačním modifikacím lipidů a snižovat agregabilitu destiček. Tyto vlastnosti vedou k menší akumulaci oxidovaných lipoproteinů o nízké hustotě v arteriální stěně a přes zásah do syntézy eikosanoidů obracejí proagregační stav ve spíše antiagregační. Chybějí ovšem jasné závěry výzkumných prací, které by tyto předpoklady potvrdily nebo vyvrátily.

Od 70. let 20.století se vědecké týmy po celém světě snaží objasnit roli selenu v prevenci nádorového bujení. Prospektivní studie, které proběhly v 80. a na začátku 90.let a zahrnovaly 8 000 - 11 000 individuí, prokázaly jasnou asociaci mezi nízkými plasmatickými hladinami selenu a zvýšeným rizikem rozvoje rakoviny a úmrtnosti na ni. (17) Další, konkrétněji zaměřené práce, tuto souvislost potvrdily. Týkaly se rizika onemocnění rakovinou plic, prostaty nebo rozvojem hepatocelulárního karcinomu. Představy o mechanismu protitumorózního působení selenu nesnižují důležitost selendependentních enzymů, ale předkládají i jiné možnosti - jeho schopnost zvyšovat imunokompetenci organismu a především produkci antitumorigenních metabolitů jakou je methylselenol nebo jeho prekurzory.

Z dosud získaných informací o efektech selenu na lidské zdraví je jasné, že se jedná o velmi významnou součást potravy a je třeba dalšího výzkumu, abychom lépe porozuměli jeho zapojení do pochodů v organismu a dokázali stanovit optimální množství, které by mělo být přijímáno potravou. Pokud by výsledky těchto studií poukazovaly na jeho významný nedostatek v porovnání s benefity, které by vyšší plasmatické koncentrace přinášely, nabízelo by se řešení v podobě obohacování potravy selenem. K tomuto kroku již přistoupila Finsko, které od roku 1984 přidává selen do průmyslových hnojiv a zvyšuje tak jeho nízký obsah v půdě.

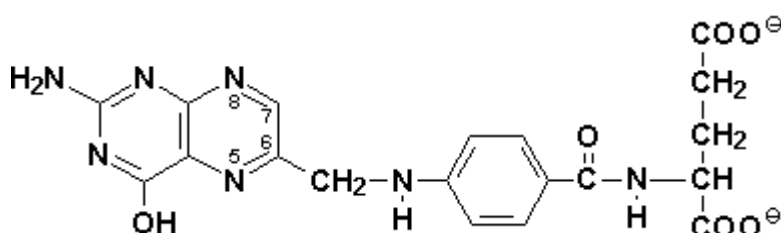
### **2.1.6. Foláty**

Kyselina listová nebo také foliová nebo pteroylglutamová patří mezi ve vodě rozpustné vitaminy skupiny B, byla objevena ve 40. letech minulého století a poprvé izolována roku 1941 z listů špenátu. Je to esenciální látka, která v lidském organismu zasahuje do mnoha biologických pochodů.



### Chemická struktura

Její molekula se skládá z pteridinového kruhu s připojenými molekulami kyseliny paraaminobenzoové (PABA) a kyseliny glutamové. Jako foláty se označují látky od kyseliny listové odvozené. V rostlinách je kyselina listová přítomna jako polyglutamátový konjugát složený ze 7 glutamátových zbytků spojených v poloze gama do polypeptidového řetězce. (4) Tyto deriváty vykazují nižší biologickou účinnost než kyselina listová.



kyselina listová

Po vstřebání jsou deriváty kyseliny listové ve střevě štěpeny specifickými enzymy na monoglutamylfolát a jeho část je pak za využití NADPH redukována na tetrahydrofolát. Tetrahydrofolát se v biochemických reakcích uplatňuje jako přenašeč aktivovaných jedouhlíkových zbytků, jejichž hlavním zdrojem je serin. Produktem této reakce je glycin a N<sup>5</sup>, N<sup>10</sup> -methylentetrahydrofolát. (4)

### Výskyt a význam

Zdrojem kyseliny listové v potravě člověka je především listová zelenina jako špenát, zelí, petržel, chřest, dále v menší míře ovoce a z živočišné stravy především játra. V mléce a v masu je kyselina listová vázána na bílkoviny, tato vazba se uvolňuje při tepelném zpracování surovin nebo enzymatickým štěpením. Kyselina listová je na světle nestabilní, podléhá oxidaci a k jejímu úbytku ve stravě dochází i vyluhováním. Ve vodě je před oxidací chráněna vitamínem C.

Pokud je ve stravě přijímána ve formě monoglutamátu je ve střevě absorbována z 90%, využitelnost polyglutamátové formy je nižší. (6)

Doporučené denní dávky kyseliny listové v České republice platné od roku 1989 činí pro muže a ženy v produktivním věku 200 µg/den a pro těhotné ženy 400 µg/den. (6) V USA byly v nedávné době stanoveny nové doporučené limity pro příjem nutrientů. Množství přijímané kyseliny listové je udáváno jako tzv. folátový ekvivalent v potravě (DFE - dietary folate equivalent). 1 µg DFE se rovná 1 µg folátu z potravy, 0,6 µg kyseliny listové z fortifikované potravy nebo 0,5 µg syntetické kyseliny listové, konzumované jako suplement nalačno. Pro dospělé a adolescenty tvoří doporučená denní dávka kyseliny listové 400 µg DFE, pro těhotné a kojící ženy potom 600 µg DFE. Zvýšený příjem je doporučován i těžkým alkoholikům, kuřákům a osobám hemodialyzovaným.

Po objevení pozitivního působení kyseliny listové na lidský organismus a především její nutnost k průběhu fyziologické embryogeneze mnoho zemí přistoupilo k fortifikaci některých potravin tímto nutrientem. Tato otázka s sebou samozřejmě přináší některé etické problémy stejně tak jako riziko mírnění příznaků nedostatku vitamínu B<sub>12</sub> nadbytkem kyseliny listové. (Hematologické symptomy megaloblastické anémie se zmírňují, nevratné neurologické poruchy ovšem přetrvávají.) V dnešní době většina severo- i jihoamerických států, země Středního Východu, některé republiky bývalého Sovětského svazu a další státy obohacují mouku a tepelně nezpracované výrobky z obilí kyselinou listovou v dávce 140 µg/100g výrobku. Česká republika ani jiná země Evropské unie do dnešního dne podle mně dostupných informací k tomuto kroku nepřistoupila. Díky tomu byly v USA stanoveny i horní limity pro příjem kyseliny foliové. Ten představuje 600 - 800 µg/den u adolescentů a 1000 µg/den u dospělých obou pohlaví. Při překročení těchto limitů se mohou vyskytnout alergické kožní reakce v podobě svědění a erytému, nechutenství a nauzea. (6) Jinak hrozí již zmíněné nebezpečí maskování deficitu vitamínu B<sub>12</sub>. Při přísunu kyseliny listové z přirozených zdrojů dosažení těchto vysokých koncentrací nehrozí, týká se spíše osob, které užívají vitaminové suplementy.

Antioxidační kapacita kyseliny listové a jejích derivátů je předmětem výzkumů poměrně nedávné doby. Ze skupiny ve vodě rozpustných vitaminů se zdá být právě kyselina listová jednou z nejúčinnějších zbraní v boji proti volným radikálům. Dosavadní studie popisují pouze jejich efekty in vitro. Tyto výsledky

se nedají přesně extrapolovat na in vivo podmínky v organismu, kde mohou do reakcí vstupovat další, ve výzkumu neuvažované sloučeniny a faktory, nicméně nám dovolují udělat si alespoň základní představu o možných antioxidačních schopnostech této skupiny látek. Zdá se, že v antioxidační obraně vystupují redukované formy folátů jako scavengery volných radikálů. Pozitivního efektu na snížení rizika výskytu kardiovaskulárních onemocnění se ovšem podílejí i nepřímo, a to snížením hladiny homocysteinu v plasmě. Epidemiologické studie ukazují, že suplementace foláty může signifikantně snížit nejen výskyt kardiovaskulárních chorob, ale také onemocnění hematologických, neurologických a neuropsychických, defektů neurální trubice a některých forem zhoubného bujení. (19) Je předmětem dalšího výzkumu ozřejmit přesnější mechanismy působení, již teď je ovšem jasné, že deriváty kyseliny listové jsou důležitou součástí naší stravy.

## 2.2. Flavonoidy

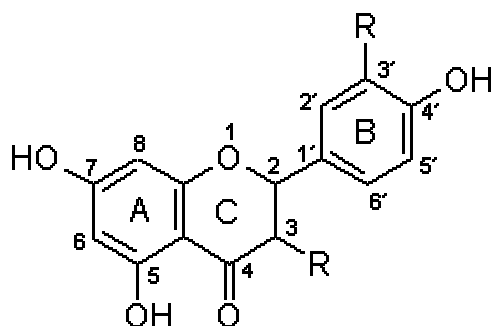
Flavonoidy jsou širokou rodinou sloučenin produkovaných rostlinami a přirozenou součástí naší stravy. Zároveň jsou v současné době podrobně studovanou skupinou látek a názory na jejich účinky a mechanismus působení prochází prudkým vývojem. Zatím je známo přes 4000 flavonoidních látek a stále jsou nacházeny nové.

Flavonoidy patří do rozsáhlé skupiny rostlinných fenolů. Jedná se o hydrofilní i lipofilní barviva zodpovědná za barvu květů, plodů a někdy i listů. Název je odvozen od latinského slova *flavus* znamenajícího žlutý, ale mohou zbarvovat rostlinné části i domodra či dočervena. V rostlinném organismu plní jak funkci protektivní (svoji přítomností v kutikule listů a v epidermálních buňkách chrání rostlinná pletiva před účinky UV záření), tak funkci atraktantů - výraznou barvou lákají opylující hmyz. Některé druhy flavonoidů mají svůj význam v metabolických pochodech a v regulaci růstu a vývoje rostliny.

## Chemická struktura

Základní struktura molekuly flavonoidů je odvozena od kyslíkaté heterocyklické molekuly flavanu, který je tvořen dvěma benzenovými kruhy spojenými heterocyklickým pyranem. Isoflavonoidy mají fenyl v poloze 3, neoflavonoidy v poloze 4. Všechny tři kruhy bývají substituovány hydroxy- či methoxyskupinou, jednotlivé deriváty se liší stupněm substituce a oxidace. Mezi základní typy flavonoidů patří: katechiny, leukoanthokyanidiny, flavanony, flavononoly, flavony, flavonoly a anthokyanidiny.

V přírodě se flavonoidy vyskytují ve formě O-glykosidů, jejich molekulu tedy můžeme rozložit na cukernou a necukernou část. Jsou také schopné vázat přechodné kovy a ovlivňovat některé enzymy.



flavonoid

## Výskyt a význam

Flavonoidy se hojně vyskytují v běžně konzumovaném ovoci a zelenině, najdeme je například v jablkách, citrusových plodech (rutin, hesperidin, naringin), rajčatech, brokolici, cibuli, petrželi, luštěninách, ale také v kakau, červeném víně a čaji (epikatechin) nebo výtažku z Ginkgo biloba. Mnohé léčivé byliny vděčí svému účinku za vysoký obsah jednoho ze základních flavonoidů - quercetinu.

Konzumace potravin bohatých na flavonoidy je spojena s nižším rizikem rozvoje chronických onemocnění jako je rakovina nebo nemoci kardiovaskulárního systému. (20) Flavonoidním substancím je připisován antioxidační, protizánětlivý a protinádorový účinek. Přijatá představa o mechanismu jejich působení a roli v antioxidační obraně organismu byla

přehodnocena, když výsledky in.vitro experimentů byly porovnány s výsledky in-vivo studií s lidskými subjekty.

Práce Galatiho a O'Briena roku 2003 (21) se soustředí především na mechanismus antioxidačního působení flavonoidních látek na subcelulární úrovni. Dále se věnuje i prooxidačním vlastnostem těchto látek. Poznatky z této studie jsou uvedeny v následujících odstavcích.

Z experimentů na zvířatech vyplývá, že flavonoidy jsou schopné bránit karcinogenezi několika způsoby: inhibicí fáze I a indukci fáze II enzymů metabolizujících karcinogen, snižováním tvorby volných kyslíkových radikálů a vyvoláním apoptózy nádorových buněk přes inhibici topoisomerázy II a downregulaci proteinu p53. Mnoho studií se zatím soustředilo na objevování a průkaz těchto a dalších člověku prospěšných vlastností. Teď je však na řadě dozvědět se více o potenciální toxicitě či nežádoucích účincích flavonoidů.

Ukázalo se, že v přítomnosti přechodných kovů jako je měď nebo železo se některé flavonoidy chovají prooxidačně a podílejí se na vzniku reaktivních forem kyslíku a fenoxylových radikálů, které poškozují DNA a jiný buněčný materiál. (21) Tyto kovy se ovšem v těle vyskytují ve formě nepoužitelné ke katalýze takových reakcí, výjimkou by mohlo být tkáňové poranění, např. při aterosklerotickém procesu, nebo Wilsonova choroba, kdy se měď v organismu nadměrně hromadí. Flavonoidy jako katechin, epigallokatechin a jiné významně zvýšily oxidaci DNA v populaci buněk HL-60 (leukemické buňky odvozené z kostní dřeně a obsahující myeloperoxidázu), pravděpodobně právě indukci myeloperoxidázy. Výzkum se také soustředí na oxidaci flavonoidů obsahujících fenolové jádro pomocí peroxidáz na fenoxylové radikály, které se účastní na poškozování buněk při leukémii nebo vzniku aterosklerózy.

Jak vidíme, flavonoidy mohou ve skutečnosti působit nejen antioxidačně, ale i prooxidačně. Je proto nevhodné konzumovat velká množství těchto látek v podobě koncentrovaného doplňku výživy, dokud se neozřejmí jejich skutečné chování v organismu.

Vrátíme-li se k dříve zmiňovaným protinádorovým účinkům flavonoidů, ukážou se nám jejich prooxidační vlastnosti v jiném světle. Dosud se za hlavní mechanismy protinádorové obrany zprostředkované flavonoidy pokládaly jejich antioxidační vlastnosti a vylučování volných kyslíkových radikálů, nyní ovšem vychází najevo, že svůj podíl na něm ponese i vlastnosti prooxidační, možná

apoptóza nádorových buněk vyprovokovaná právě kyslíkovými radikály tvořenými fenoxylými sloučeninami. Schopnost tvořit reaktivní formy kyslíku za přítomnosti přechodných kovů a štěpit DNA mají flavonoidy společnou s již známými protinádorovými léčivy, nadějnou látkou je v tomto výzkumu např. resveratrol - flavonoid vyskytující se ve slupkách a jadérkách vinné révy, arašídech, černém rybízu nebo grapefruitu.

Další důležitou vlastností flavonoidních látek v jejich obraně proti maligní transformaci buněk je jejich mitochondriální toxicita. Mitochondrie jsou kromě tzv. elektrárny buňky také významnou součástí řetězce spuštění apoptózy. Látkou, která v potlačování růstu nádorových buněk využívá indukci apoptózy (ačkoliv nevíme jistě, zda působením na mitochondrie), je flavopiridol. Je semisyntetickým analogem rohitukinu, flavonoidu získávaného z indického keře a používaného jako součást některých protinádorových léčiv. Flavopiridol prokázal účinnost na některé typy rakoviny ledvin, prostaty, kolon nebo na lymfomy. Nachází se ve fázi klinických testů. Jeho hlavním a dávkou limitujícím nežádoucím účinkem je závažný průjem.

Nedlouho známou vlastností rostlinných flavonoidů je jejich interakce s cytochromem P450, enzymem účastnícím se metabolismu xenobiotik a také aktivace prokarcinogenů. Z látek, které jsou takto schopny inhibovat karcinogenezi jmenujme např. kapsaicin, fenolový antioxidant obsažený v chilli papričkách a zodpovědný za pálivý chuťový vjem při jejich konzumaci. Jím způsobenou inhibicí CYP2E1 je znemožněna aktivace vinylkarbamátu nebo N-nitrosodimethylaminu.

Naopak druhá fáze metabolismu karcinogenů je flavonoidy urychlována, indukují enzymy jako UDP-glukuronyltransferáza nebo glutathion-S-transferázy a urychlují tak vyloučení nebezpečných látek z organismu.

Zásahy do funkce cytochromu P450 s sebou ovšem přinášejí riziko interakcí flavonoidů s některými léky. Výsledky podrobnějších výzkumů by se daly shrnout takto: podle chemické struktury flavonoidní substance cytochrom P450 buď inhibují, nebo indukují. Tím zasahují do farmakokinetiky léčiv a snižují jejich terapeutický efekt nebo naopak mohou vést k předávkování. Jako příklad uveďme naringenin, hlavní flavanon grapefruitového džusu. Do 30 minut po požití dojde k inhibici intestinálního CYP3A4 a změnám metabolismu léků jako jsou např. blokátory kalciového kanálu.

Potud poznatky shrnuté ve studii Galatiho a O'Briena. V roce 2006 byly zveřejněny výsledky práce Silviny B. Lotito a spolupracovníků, kteří na úlohu flavonoidů v antioxidační obraně organismu nahlízejí zcela jinak. (20)

Vycházejí z faktu, že i po příjmu velkého množství stravy bohaté na flavonoidy jejich koncentrace v krevní plasmě dosahují pouze mikromolárních hodnot. Přiznávají flavonoidům významné antioxidační vlastnosti in-vitro, ale ty jsou přímo v organismu ovlivněny několika faktory. Především jejich absorpce z potravy je v porovnání s jinými antioxidanty jako jsou např. vitamin C nebo E velmi nízká. 1 - 3 hodiny po konzumaci potravy bohaté na flavonoidy se koncentrace např. flavonolů pohybuje mezi hodnotami 0,06 - 7,6  $\mu\text{M}$  narozdíl od běžně dosahovaných 30 - 150  $\mu\text{M}$  u kyseliny askorbové nebo 160 - 450  $\mu\text{M}$  u urátů. Ani chronicky vysoký příjem flavonoidů v potravě nevede k dosažení výrazně vyšších koncentrací. V organismu jsou potom flavonoidní substance velmi rychle metabolizovány, především v játrech a ve střevě. Jak již bylo výše zmíněno, flavonoidy jsou induktory druhé fáze metabolismu xenobiotik, což poukazuje na to, že jsou tělem rozpoznány jako substance cizí a potenciálně toxické. Již při prvním průchodu jaterními a intestinálními buňkami dochází k rychlé glukuronidaci, metylaci nebo sulfataci původně přijatých flavonoidů, a tedy jejich metabolity, které nacházíme v plasmě, se svými vlastnostmi liší a jejich antioxidační schopnosti jsou většinou nižší.

Po příjmu potravy bohaté na flavonoidy dochází ke vzrůstu celkové antioxidační kapacity plasmy. Není ovšem vždy jasné, které složky potravy tento efekt způsobily. Tyto potraviny často obsahují i jiná antioxidační činidla jako např. vitamin C, který se na celkové antioxidační kapacitě plasmy podílí významným dílem. Na tomto místě je také nutné uvést dosavadní poznatky o kyselině močové a její roli v antioxidačních procesech. Tento koncový produkt metabolismu purinů byl dlouho považován za odpadní látku. Ovšem už fakt, že téměř 90% je jí v tubulech reabsorbováno ukazuje, že je to látka pro tělo důležitá. Je hlavním antioxidantem plasmy, podle metod použitých k měření může dosahovat 40 - 90% podílu celkové antioxidační kapacity plasmy. Ačkoli jídla bohatá na flavonoidy většinou neobsahují kyselinu močovou nebo její prekurzory, po jejich konzumaci je v plasmě pozorován vzestup koncentrací urátů. A právě tato skutečnost může vysvětlovat i nárůst celkové antioxidační kapacity plasmy dříve připisovaný flavonoidům. Dále je nutno vzít do úvahy efekt příjmu potravy

jako takové bez ohledu na obsah antioxidantů v ní. Byly provedeny pokusy s konzumací jídla s vysokým obsahem tuků a následně extraktu z borůvek obsahujícím velké množství anthokyaninů, jako kontrola sloužilo stejné jídlo avšak místo borůvkového extraktu bylo použito placebo. Celková antioxidační kapacita plasmy vzrostla v obou případech a to paralelně s nárůstem koncentrací triacylglycerolů v oběhu. Z výsledků jiných pokusů citovaných v práci Lotito a Frei vyplývá také silný postprandiální efekt karbohydrátů na celkovou antioxidační kapacitu plasmy. Tato vzrůstá i např. po konzumaci roztoku fruktózy proporcionalně s množstvím přijatých karbohydrátů a bez ohledu na nepřítomnost antioxidantů v roztoku. Je známo, že fruktóza je ze zažívacího traktu velmi rychle absorbována a metabolizována pomocí fruktokinázy. Také je známo, že svým zásahem do metabolismu ATP zvyšuje koncentraci kyseliny močové v plasmě. Autoři na příkladu jablek ukazují, že naše dosavadní představa o funkci flavonoidů jako antioxidantů nemusí být přesná. Při provedeném pokusu jedna skupina dobrovolníků vypila 1 l vody s rozpuštěným množstvím fruktózy, které odpovídalo množství v 5 jablkách, které zkonsumovala druhá skupina. Hladina urátů poté signifikantně vzrostla u obou skupin, stejně jako celková antioxidační kapacita plasmy, jejíž změny v čase si u obou skupin vzájemně odpovídaly.

Z těchto poznatků vyplývá, že konzumace potravy bohaté na flavonoidy zvyšuje celkovou antioxidační kapacitu plasmy, ovšem vliv samotných flavonoidů na tyto procesy může být pouze zanedbatelný a děje se tak spíše díky přítomnosti jiných antioxidačních činidel nebo díky schopnosti látek obsažených v potravě stimulovat hladiny urátů v plasmě.

Vraťme se teď k jednotlivým zástupcům rodiny flavonoidních substancí a uveďme jejich užití v běžném životě a případná rizika spojená s jejich užíváním. Při konzumaci flavonoidů byly pozorovány některé nežádoucí účinky. U tří pacientů požívajících katechin se rozvinula hemolytická anémie a trombocytopenie. Po vysazení léku došlo k úpravě krevních hodnot k normálu, v séru pacientů byly nalezeny protilátky proti destičkám a červeným krvinkám. Kava, keř pocházející z jižního Tichomoří, obsahuje prekurzory flavonoidů, které se odlišují absencí uzavřeného kruhu C. Z místa svého přirozeného výskytu se rozšířila i na západní trh a je užívána jako anxiolytikum a prostředek zlepšující náladu. Po její konzumaci bylo popsáno několik případů jaterního selhání, z toho pět si vyžádalo transplantaci jater. Mimo to má kava velký potenciál způsobovat



interakce s většinou běžně užívaných léků, v kombinaci s benzodiazepiny může vést až ke komatu. Některé státy jako Švýcarsko nebo Německo zakázalo pultový prodej přípravků z kavy. (21)

Propolis, neboli včelí tmel, produkováný včelami při stavbě úlu a nanášený jimi v tenké vrstvě na stěnu, obsahuje deriváty kyseliny kofeinové. Propolis se těší velké oblibě v přírodním léčitelství pro své antiseptické, protizánětlivé, antioxidantní, protibakteriální, protiplísňové, mírně anestetické a rány hojící účinky, můžeme ho najít v kosmetických přípravcích, zubních pastách, mastech nebo žvýkačkách. Ale právě přítomnosti derivátů kyseliny kofeinové je přičítán poměrně častý výskyt kontaktní alergie na propolis, která se projevuje ve formě kontaktní dermatitidy nebo orální mukozitidy. (21)

Věnujme se ještě krátce problému fytoestrogenů, tedy rostlinných látek, které svým účinkem napodobují účinky  $17\beta$ -estradiolu. Většina flavonoidů nemá fytoestrogenní charakter, výjimkou je skupina isoflavonů, která působí přes estrogenové receptory a má i účinky antiestrogenní. Patří mezi ně např. genistein nebo daidzein obsažené v sóji nebo 8-prenylnaringenin nacházený v pivu. Je ale pouze minimum studií zabývajících se možnými endokrinními účinky sójových produktů na dětský organismus, stejně tak zůstává kontroverzní myšlenka využití fytoestrogenů jako přírodní prevence proti hormonálně dependentním nádorům nebo jako alternativa HRT.

Výše vyjmenovaná rizika, ať již hypotetická nebo studii podložená, spojená s konzumací flavonoidů, se týkají denního požívání velmi vysokých dávek. Při běžném stravování převažují jejich pozitivní účinky. Finská studie, která sledovala dietní návyky 10 054 mužů a žen a na základě koncentrací flavonoidů ve finských potravinách stanovovala jejich příjem, zjistila, že zvýšená konzumace potravin obsahujících některé látky vede ke snížení incidence chronických chorob. Např. vyšší příjem potravin obsahujících quercetin (jablka, čaj, cibule, červené víno, citrusové plody, brokolice atd.) koreloval s nižší úmrtností na ischemickou chorobu srdeční, stejná spojitost byla objevena mezi potravinami s obsahem kaempferolu (jablko, cibule, pórek, červené víno, Ginkgo biloba,...), naringenin a hesperetin (oba v citrusových plodech) a výskytem cerebrovaskulárních obtíží. Muži s vyšším příjmem quercetinu měli nižší riziko vzniku rakoviny plic, vyšší konzumace myricetinu (hroznové víno, bobulovité ovoce, vlašské ořechy,...) vedla ke snížení incidence rakoviny prostaty. Nižší

výskyt astmatu byl zaznamenán u osob s vyšším příjmem quercetinu, naringeninu a hesperetinu.

Výsledky této studie samozřejmě ovlivňuje skutečnost, že mimo flavonoidů se v potravinách mohou vyskytovat další nám zatím neznámé látky, které mohou snižovat riziko jednotlivých chorob, stejně tak nebyly do studie zavzaty další ovlivňující faktory jako je např. životní styl. Přesné souvislosti mezi flavonoidy a výskytem chronických onemocnění tedy stále čekají na ozřejnění.

## Závěr

Výsledky různých typů studií prokázaly, že mnoho látek, které jsou součástí naší stravy, má antioxidační schopnosti. I s přihlédnutím k tomu, že každá z používaných výzkumných metod s sebou nese určité riziko nepřesností, můžeme látky, kterým jsem se blíže věnovala v této práci, považovat za více či méně silná antioxidační činidla a jejich pozitivní efekt na zdraví připisovat právě jejich schopnostem bojovat s reaktivními formami kyslíku a dusíku a minimalizovat tak oxidační poškození organických makromolekul. U mnoha z nich byl prokázán příznivý dopad na prevenci výskytu některých kardiovaskulárních, plicních, neurologických nebo endokrinních onemocnění a některých typů nádorového bujení. Jsou přítomny v běžně konzumovaných potravinách živočišného nebo rostlinného původu. Nejlepšími zdroji nízkomolekulárních antioxidantů a flavonoidů jsou právě jejich přírodní formy, zde se vyskytují v takovém prostorovém uspořádání a konfiguraci, která umožňuje jejich nejvyšší využitelnost pro organismus. Ovoce a zelenina, které jsou hlavním zdrojem přírodních antioxidantů, zároveň obsahují i vlákninu, další vitaminy, stopové prvky atd. Druhou možností přísunu antioxidantů do organismu je jejich suplementace v podobě potravinových doplňků. Tato varianta s sebou přináší možnost mnohem většího denního příjmu než je doporučováno, což se u některých skupin ukazuje jako nevhodné nebo dokonce zdraví škodlivé.

Běžná pestrá strava je schopna plně uhradit nároky organismu na příjem antioxidačních látek. Západní obyvatelstvo má obecně sklony k nedosahování doporučených denních dávek vzhledem k nedostatečné konzumaci ovoce, zeleniny a ostatních zdrojů antioxidantů. Toto je samozřejmě skutečnost, na kterou je vhodné se zaměřit v prevenci civilizačních chorob a u běžné populace intervenovat pomocí změn stravovacích zvyklostí. U skupin osob s velkou karencí těchto nutrientů nebo patologickými stavy, které neumožňují jejich dostatečné využití, je možné uchýlit se k suplementaci potravinovými doplňky. Osobně se přikloňuji k názoru, že potravinové doplňky nejsou indikovány tam, kde je možné lepšího antioxidačního statutu dosáhnout úpravou přijímané stravy a životního stylu.

## Souhrn

Volné radikály jsou molekuly s alespoň jedním nepárovým elektronem v některém ze svých orbitalů. Tato vlastnost z nich činí mimořádně reaktivní částice, které ve snaze vyrovnat svůj energetický stav napadají buněčné makromolekuly (lipidy, nukleové kyseliny, proteiny) a omezují tak jejich funkčnost. Vznikají ve všech buňkách organismu i za fyziologických podmínek, ale v poslední době se prokazuje především jejich účinek v patogenzi mnoha onemocnění. Buněčnou rovnováhu udržují tzv. antioxidační látky, jejich zástupce najdeme mezi enzymy (superoxiddismutáza, kataláza a další), vysokomolekulárními endogenními látkami (např. transferin, ceruloplasmin, koenzym Q), ale i mezi látkami přijímanými stravou.

Hlavním ve vodě rozpustným antioxidantem je kyselina askorbová. Jejími hlavními zdroji je ovoce a zelenina, nacházíme ji ovšem i v potravinách živočišného původu a mateřském mléce. Kromě antioxidační obrany se účastní i metabolismu tyrosinu, žlučových kyselin a karnitinu. Vitamin E mimo svoji roli v reprodukčním systému mužů i žen, vývoji nervové a svalové soustavy a účinků na krevní elementy brání peroxidaci lipidů buněčných membrán a udržuje tak buněčnou integritu. Vitamin A i jeho prekurzory karotenoidy se zapojují nejen do procesu vidění, buněčné diferenciaci a reprodukce, ale obě skupiny vykazují i účinky antioxidační, zdá se, že karotenoidy i některé účinky na vitamín A nezávislé. U těchto skupin je vhodné dodržovat denní doporučené dávky, protože nadměrný přísun vitamínu A může být pro tělo toxický a přísun megadávek  $\beta$ -karotenu se v několika studiích ukázal jako zvyšující riziko výskytu nádoru plic u kuřáků. Selen je důležitým stopovým rozpuštěným v půdě. Je součástí tzv. selenoproteinů, které se mimo jiné účastní antioxidačních reakcí (glutathionperoxidáza). Nově je pozornost zaměřena na skupinu folátů, jejichž zdrojem je hlavně listová zelenina. Ukazuje se, že jsou účinnými scavengery volných radikálů. Názory na mechanismus antioxidačního účinku flavonoidů, v rostlinné říši široce rozšířených barviv, prodělávají v poslední době poměrně bouřlivý vývoj. Ať už ale působí přímo, nebo zprostředkovaně přes kyselinu močovou, jejich konzumace zvyšuje celkovou antioxidační kapacitu plasmu.

## **Summary**

Free radicals are molecules that contain at least one unpaired electron in some of its outer orbits. To reach the optimal energetic state free radicals react easily with cellular macromolecules such as proteins, lipids or DNA and alter their functions. They play an important role in cellular biochemistry in both physiological and pathological conditions. To maintain the prooxidant-antioxidant equilibrium organisms have evolved various antioxidant defences such as enzymes (superoxide dismutase, catalase etc.), high-molecular endogenous substances (transferrin, ceruloplasmin etc.) or they use substances present in food.

The main water-soluble plasma antioxidant is ascorbic acid, mostly contained in fruit and vegetable. Vitamin C plays also an important role in metabolism of tyrosine, bile acids or carnitine. Vitamin E participates not only in reproduction, haematopoiesis or development of tissues, but also protects the cellular membranes from peroxidation caused by free radicals. Processes of vision, cell differentiation or reproduction require the presence of vitamin A and its precursors, carotenoids. Both of these groups show potent antioxidant capacity within their physiological plasma concentrations. On the contrary, excessive intake of vitamin A can lead to intoxication, megadoses of carotenoids have caused higher incidence of lung cancer in smokers in some studies. The essential trace element, selenium, is a constituent of selenoproteins - enzymes that play role in antioxidant defence of organism. Folates are most abundant in plant food sources. Recent research has revealed their ability to act as free radical scavengers. Mechanism of antioxidant effects of flavonoids, the widespread plant pigments, is not yet clear. The large increase in plasma total antioxidant capacity observed after the consumption of flavonoid-rich foods can be caused either by flavonoids themselves, or it is consequence of increased uric acid levels.

## **Seznam použité literatury**

1. ŠTÍPEK, S. et al. *Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 2000, 314 s. ISBN 80-7169-704-4
2. CLARKSON, P.M. and THOMPSON, H.S. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *Am J Clin Nutr*, 2000, vol. 72 (suppl.), p. 637S-646S
3. HALLIWELL, B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *The Lancet*, 1994, vol. 344, p. 721-724
4. MURRAY, R.K. et al. *Harperova biochemie*. 3. vyd. Praha: H+H, 2001. 872 s. ISBN 80-7319-003-6
5. CARR, A.C. and FREI, B. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *Am J Clin Nutr*, 1999, vol. 69, p. 1086-1107
6. HLÚBIK, P., OPLTOVÁ, L. *Vitaminy*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 2004. 232 s. ISBN 80-247-0373-4
7. HATHCOCK, J.N. et al. Vitamin E and C are safe across a broad range of intakes. *Am J Clin Nutr*, 2005, vol. 81, p. 736-745
8. MILTON, K. Nutritional characteristics of wild primate foods: Do the diets of our closest living relatives have lessons for us? *Nutrition*, 1999, vol. 15, no. 6, p. 488-498
9. LINDER, M.C. et al. *Nutritional Biochemistry and Metabolism*. 2. ed. East Norwalk: 1991. 603 p. ISBN 0-8385-7084-4
10. MYHRE, A. M. et al. Water-miscible, emulsified, and solid forms of retinol supplements are more toxic than oil-based preparations. *Am J Clin Nutr*, 2003, vol. 78, p. 1152-1159
11. MAGGIO, D. Low levels of carotenoids and retinol in involutional osteoporosis. *Bone*, 2006, vol. 38, p. 244-248
12. HANDELMAN, G.J. The evolving role of carotenoids in human biochemistry. *Nutrition*, 2001, vol. 17, p. 818-822
13. KRINSKY, N.I. Carotenoids as antioxidants. *Nutrition*, 2001, vol. 17, p. 815-817
14. *National Institute of Health, Office of Dietary Supplements* [online]. 23.4.2006 [cit. 23.7.2007]. Dostupné z: <http://ods.od.nih.gov/factsheets/vitamina.asp>
15. OMENN, G.S. Risk factors for lung cancer and for intervention effects in CARET, the Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial. *J Natl Cancer Inst*, 1996, vol. 88, no. 21, p. 1550-1559
16. PETERS, U. et al. Serum Lycopene, Other Carotenoids, and Prostate Cancer Risk: a Nested Case-Control Study in the Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian Cancer Screening Trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2007, vol. 16, no. 5, p. 962-968
17. RAYMAN, M.P. The importance of selenium to human health. *Lancet*, 2000, vol. 356, p. 233-241
18. *National Institute of Health, Office of Dietary Supplements* [online]. 8.1.2004 [cit. 19.7.2007]. Dostupné z: [www.ods.od.nih.gov/factsheets/selenium.asp#h2](http://www.ods.od.nih.gov/factsheets/selenium.asp#h2)
19. GLISZCZYNSKA-SWIGLO, A. Foliates as antioxidants. *Food Chemistry*, 2007, vol. 101, no. 4, p. 1480-1483

20. LOTITO, S.B. and FREI, B. Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: Cause, consequence, or epiphenomenon? *Free Radical Biology & Medicine*, 2006, vol.41, p. 1727-1746
21. GALATI, G. and O'BRIEN, P. Potential toxicity of flavonoids and other dietary phenolics: Significance for their chemoprotective and anticancer properties. *Free Radical Biology & Medicine*, 2004, vol. 37, no. 3, p. 287-303