

Wyrównywanie niedoborów folianów u kobiet w wieku rozrodczym

Joe Leigh Simpson, MD, Lee P. Shulman, MD, Haywood Brown, MD, Wolfgang Holzgreve, MD

Lekarze powinni uświadamiać pacjentkom konieczność uzupełniania niedoborów folianów w celu zapobiegania wadom cewy nerwowej (neural tube defect, NTD) oraz zachęcać je do regularnego stosowania się do tych zaleceń. Celem tego artykułu jest omówienie kwestii związanych ze stosowaniem, zagrożeniami i korzyściami wynikającymi z suplementacji kwasu foliowego.

Odpowiednie stężenie folianów u matki jest konieczne dla zapobiegania wadom cewy nerwowej (NTD) u płodu. Niewystarczająca liczba kobiet w Stanach Zjednoczonych korzysta jednak z suplementacji kwasem foliowym w wieku reprodukcyjnym,¹ a dieta rzadko dostarcza im wystarczającej ilości folianów, mimo że wiele produktów zbożowych jest ostatnio wzbogacanych o kwas foliowy.

Foliany a kwas foliowy

Foliany są to witaminy rozpuszczalne w wodzie, niezbędne do syntezy tymidylanu, nukleotydu purynowego, który wytwarza tymidynę, integralny składnik DNA. Foliany dostarczane z dietą najczęściej występują w ciemnozielonych warzywach liściastych, żółtkach jajek, owocach cytrusowych i warzywach strączkowych (tabela²). Z wyjątkiem wątróbki, mięso nie jest dobrym źródłem folianów.²

Różny pod względem chemicznym od folianów pochodzenia roślinnego jest kwas foliowy (kwas pteroiloglutaminowy), syntetyczny związek pozbawiony grupy metylowej niezbędnej do właściwej bioaktywności. Kwas foliowy staje się aktywny biologicznie dopiero po redukcji *in vivo* przez dodanie wodoru i utworzenie L-5-metylotetrahydrofolianu.³

Foliany występują w żywności w postaci naturalnej lub zredukowanej (z grupą wodorotlenową). Foliany pochodzące z żywności nie są wykorzystywane wydajnie, ponieważ są nietrwałe i szybko tracą swoje właściwości w procesie przygotowania, przetwarzania i wchłaniania. Mimo syntetycznego pochodzenia kwas foliowy dostarcza 70% więcej bioaktywnego folianu niż porównywalna ilość folianów dostarczanych z dietą.^{3,4}

Przy obliczaniu ilości folianu pozyskanego ze wszystkich źródeł należy wziąć pod uwagę różnice we wchłanianiu folianów występujących w pożywieniu oraz syntetycznego kwasu foliowego. Normy zalecanego dobowego zapotrzebowania (recommended daily allowance, RDA) na foliany ustalone przez Instytut of Medicine (IOM) są wyrażone zgodnie z równoważnikiem folianów pochodzących z diety (dietary folate equivalent, DFE), jednostką opracowaną w celu uwzględnienia różnic we wchłanianiu naturalnie występującego folianu dostarczanego z dietą oraz syntetycznego kwasu foliowego.⁵

Foliany zapobiegają wadom cewy nerwowej

Odpowiednie stężenie folianów w surowicy matki zapewnia wydajny podział komórek zarodka i płodu. Prawidłowe średnie stężenie folianów w surowicy (>7 ng/ml) koreluje z najrzadszym występowaniem wad cewy nerwowej,⁶ takich jak bezmózgowie, rozszczep kręgosłupa w odcinku lędźwiowym czy przepuklina mózgowa. Wyjątkowo duże ryzyko posiadania dziecka z wadami cewy nerwowej występuje u kobiet chorych na cukrzycę, otyłych oraz przyjmujących leki przeciwpadaczkowe.² Wady

Dr Simpson, executive assistant dean for academic affairs and professor, obstetrics and gynecology, and human and molecular genetics, Florida International University College of Medicine, Miami.

Dr Shulman, the Anna Ross Lapham Professor of obstetrics and gynecology and chief, Division of Reproductive Genetics, Feinberg School of Medicine, Northwestern University, Chicago, Illinois.

Dr Brown, chair of obstetrics and gynecology, Duke University Medical Center, Durham, Karolina Północna.

Dr Holzgreve, professor, gynaecology and obstetrics, Wissenschaftskolleg zu Berlin Institute for Advanced Study, Niemcy.

Dr Simpson jest członkiem Rady Redakcyjnej Contemporary OB/GYN; otrzymał wynagrodzenie za konsultację z firmy Bayer Schering Pharma AG.

Dr Shulman otrzymał wynagrodzenie za konsultację i promowanie oraz reklamowanie od firm Bayer Schering Pharma AG, Ortho, Teva, and Merck/Schering-Plough, GlaxoSmithKline i prowadził badania zlecone dla firmy Bayer.

Dr Brown otrzymał wynagrodzenie za konsultację od firmy Bayer Schering Pharma AG oraz wynagrodzenie za prelekcje dla firmy Alere.

Dr Holzgreve otrzymał wynagrodzenie za konsultację dla firmy Bayer Schering Pharma AG.

TABELA

Źródła folianów w diecie

| | Wielkość porcji | Zawartość folianów |
|--------------------------------|-----------------|--------------------|
| Duszona wątroba wołowa | 100 g | 215 μg |
| Łosoś | 100 g | 25 μg |
| Fasola pinto (różowa plamista) | 0,5 filiżanki | 147 μg |
| Gotowane szparagi | 0,5 filiżanki | 134 μg |
| Gotowany szpinak | 0,5 filiżanki | 131 μg |
| Sok pomarańczowy | 0,5 filiżanki | 100 μg |
| Salata rzymska | 1 filiżanka | 64 μg |
| Surowy szpinak | 1 filiżanka | 58 μg |
| Surowe brokuly | 1 filiżanka | 58 μg |
| Pomarańcza | 1 sztuka | 48 μg |
| Mrożony groszek zielony | 1 filiżanka | 47 μg |
| Świeże truskawki | 1 filiżanka | 35 μg |
| Świeża kantalupa | 1 filiżanka | 34 μg |

Informacja wg Kauwell GPA i wsp.²

cewy nerwowej powstają na skutek niedomknięcia cewy nerwowej, która tworzy się nad rozwijającym się mózgiem zarodka i rdzeniem kręgowym. Zamknięcie cewy nerwowej następuje przed 28 dniem embriogenezy (42 dni po zapłodnieniu).² Z tego też powodu właściwe stężenie kwasu foliowego u matki należy zapewnić jeszcze przed ciążą.

Fakt, że suplementacja kwasu foliowego może chronić przed wadami cewy nerwowej, został po raz pierwszy udowodniony w 1980 roku przez Smithellsa i wsp. Podawali oni multiwitaminę zawierającą 360 μg kwasu foliowego na dobę pacjentkom, które w wyniku poprzedniej ciąży urodziły dziecko z wadą cewy nerwowej.⁷ Taka dawka kwasu foliowego była stosowana z uwagi na wygodę oraz dlatego, że kwas foliowy był jedynym związkiem pokrewnym folianom syntetyzowanym w owym czasie. (Biodostępna postać L-5-metylotetrahydrofolianu, nazywana metafoliną, jest obecnie dostępna w postaci uzupełniającej). Wyniki badań przeprowadzonych przez Smithellsa i wsp. wykazały zmniejszenie częstości ponownego zmniejszenie wad cewy nerwowej. Choć oczekiwany wskaźnik ponownego wystąpienia wady u noworodka wynosił 5%, w grupie przyjmującej kwas foliowy wynosił on tylko 0,6%.⁷

Po badaniu Smithellsa i wsp. przeprowadzono randomizowane kontro-

lowane badanie kliniczne w ramach Medical Research Council Vitamin Study Research Group. Badanie to udowodniło spadek liczby wad cewy nerwowej o 72% w przypadku kobiet przyjmujących 4000 μg suplementów kwasu foliowego na dobę.⁸

Jedynie randomizowane badanie kliniczne kontrolowane wykazujące rzadsze występowanie wad cewy nerwowej u dzieci kobiet, które nie miały wcześniej potomstwa dotkniętego takimi wadami, zostało przeprowadzone na Węgrzech przez Czeizela i Dudása.⁹ Występowania wady nie stwierdzono u żadnej z 2471 kobiet otrzymujących 800 μg kwasu foliowego na dobę w porównaniu z 6 na 2391 pacjentek, które nie otrzymywały kwasu foliowego.

Po badaniu węgierskim przeprowadzono duże badanie populacyjne w Chinach. W różnych regionach geograficznych kraju wybrane kobiety objęte badaniem otrzymywały dawkę 400 $\mu\text{g}/24$ h kwasu foliowego.¹⁰ W regionach, w których wady występowały często (0,65% przypadków NTD), suplementacja kwasu foliowego zmniejszyła częstość występowania NTD o 79% i o 41% w regionach, w których do wad dochodziło najrzadziej (0,08% przypadków NTD). W 25% przypadków NTD prawdopodobnie nie są wrażliwe na zwiększone stężenie kwasu foliowego, a ten wskaźnik może być jeszcze wyższy w regionach, w których NTD

występują rzadko. Fakt, że niektóre przypadki nie wykazują wrażliwości na kwas foliowy, może tłumaczyć, dlaczego w niektórych badaniach porównawczych przypadków nie udaje się wykazać korzyści wynikających z przyjmowania kwasu foliowego.¹¹

Osiągnięcie optymalnego stężenia folianów w celu zapobiegania wadom cewy nerwowej

Norma zalecanego dobowego zapotrzebowania na foliany u kobiet niebędących w ciąży wynosi 400 μg ,⁵ co stanowi dawkę konieczną do zaspokojenia zapotrzebowania 97% tych kobiet. Norma zalecanego dobowego zapotrzebowania na foliany w czasie ciąży wynosi 600 μg ,³ i jest o 50% wyższa niż w przypadku kobiet niebędących w ciąży. Zapotrzebowanie na foliany w czasie ciąży zwiększa się częściowo z uwagi na konieczność zapewnienia syntezy DNA, RNA i aminokwasów dla wzrostu płodu. Wśród innych zmian fizjologicznych, które wymuszają wzrost zapotrzebowania na foliany, wymienia się zwiększone zapotrzebowanie macicznie-łożyskowe, rozrzedzenie folianów w surowicy w wyniku 50% obniżenia stężenia we krwi, zwiększony katabolizm, wzmożoną eliminację, osłabione wchłanianie oraz niewystarczające spożycie folianów.¹²⁻¹⁹

Osiągnięcie zalecanego stężenia folianów w surowicy tylko dzięki diecie jest bardzo trudne.³ Dieta amerykańska nie jest zazwyczaj bogata w foliany pochodzenia naturalnego. Średnie dobowe spożycie folianów pochodzenia naturalnego przez przeciętną dorosłą Amerykankę wynosi około 170 μg . Wzbogacone produkty zbożowe (np. makarony, pieczywo) sprzedawane w Stanach Zjednoczonych zawierają 140 μg kwasu foliowego na 100 g.²⁰ Średnie spożycie kwasu foliowego pochodzącego ze wzbogaconej żywności przez kobiety w wieku rozrodczym wynosi jednak tylko 128 μg na dobę.²¹ Tym samym kwas foliowy przyjmowany wraz z naturalnymi składnikami diety oraz ze wzbogaconej żywności rzadko

spełnia normy zalecane w zapobieganiu NTD w przypadku kobiet, które nie miały wcześniej potomstwa dotkniętego wadami. Z tego powodu zaleca się, aby wszystkie kobiety w wieku rozrodczym przyjmowały suplementy kwasu foliowego.

US Public Health Service zaleciła w 1992 roku, aby kobiety w wieku rozrodczym przyjmowały 400 μg kwasu foliowego na dobę.²² W 1998 roku IOM potwierdził, że kobiety, które mogą zająć w ciążę, powinny spożywać 400 μg kwasu foliowego na dobę i poza naturalnymi folianami pochodzącymi ze zróżnicowanej diety, źródłem kwasu foliowego mogą być suplementy diety lub żywność wzbogacona.⁵ To, że IOM kieruje swoje zalecenia do „kobiet, które mogą zająć w ciążę” podyktowane jest tym, że powstanie cewy nerwowej dokonuje się w miesiąc od zajścia w ciążę. W tym okresie wiele kobiet nie jest jeszcze nawet świadomych faktu bycia w ciąży. Sformułowanie zaleceń wobec kobiet, które usiłują zająć w ciążę, nie byłoby wystarczające, ponieważ ocenia się, że 50% wszystkich ciąż w Stanach Zjednoczonych jest niezamierzonych lub nieplanowanych.²³ Co więcej, także American College of Obstetricians and Gynecologists zaleca, aby kobiety w wieku rozrodczym przyjmowały 400 μg kwasu foliowego na dobę.²⁴ Zgodnie z ostatnim zaleceniem United States Preventive Services Task Force (USPSTF) opracowującego zalecenia z zakresu profilaktyki medycznej rekomendowana dobową dawkę kwasu foliowego powinna wynosić 400–800 μg . Różnica między tymi wartościami stanowi odzwierciedlenie niepewności dotyczącej dokładnej dawki optymalnej w zapobieganiu NTD.²⁵ Zalecana dawka, mająca na celu zapobieganie ponownemu występowaniu NTD u potomstwa wynosi 4000 μg na dobę, co stanowi poziom możliwy do uzyskania wyłącznie przez suplementację farmaceutyczną.²⁴

Suplementy kwasu foliowego bez recepty oraz preparaty multiwitaminowe zawierające kwas foliowy zazwyczaj zawierają co najmniej 400 μg , a mogą zawierać nawet do 1000 μg kwasu foliowego. Folian może wystę-

pować w postaci wyłącznie syntetycznego kwasu foliowego lub kwasu foliowego w połączeniu z biodostępnymi folianami, L-5-metylotetrahydrofolianem. Nie zaleca się stosowania preparatów ziołowych, ponieważ ich bioaktywność jest niepewna i istnieje niewiele prób klinicznych oceniających ich stosowanie. Kwas foliowy lub L-5-metylotetrahydrofolian w postaci czystej lub łączonej mogą być przyjmowane jako produkt jednoskładnikowy, składnik preparatu multiwitaminowego lub jakiegokolwiek preparatu przyjmowanego powszechnie przez kobiety w wieku rozrodczym. Food and Drug Administration dopuściła ostatnio do użytku doustną tabletkę antykoncepcyjną zawierającą 400 μg metafolinę.

Choć lekarze klinicyści powinni zachęcać wszystkie kobiety do przyjmowania kwasu foliowego wraz z dietą lub w postaci suplementu, rzadko jednak stosują się one do tych zaleceń.^{25,26} Jest to szczególnie niefortunne w przypadku kobiet w wieku rozrodczym, ponieważ 50% wszystkich ciąż nie jest planowanych, a zgromadzenie odpowiednich zapasów kwasu foliowego wymaga czasu.²³

Czy suplementacja kwasu foliowego zmniejsza ryzyko innych wad płodu?

Suplementacja kwasu foliowego we wczesnym okresie ciąży może wpływać na zmniejszenie częstości występowania wad płodu innych niż NTD, choć badania w tym zakresie nie zostały jeszcze udokumentowane w równym stopniu, co w przypadku wad cewy nerwowej. Najlepiej udowodniony jest wpływ kwasu foliowego na wady serca, szczególnie ubytek przegrody międzykomorowej, i wady dotyczące podziału stożka i pnia naczyniowego (np. tetralogia Fallota, przełożenie dużych naczyń).²⁷ Czeizel wykazał rzadsze występowanie wad serca (dotyczących podziału stożka i pnia naczyniowego) oraz dróg moczowych (niewytworzenia się nerek, torbielowatości nerek, wad połączenia miedniczkowo-moczowodowego) dzięki przyjmowaniu 800 μg kwasu

foliowego na dobę.²⁸ W przypadku wad serca ryzyko względne wynosiło 0,48 (o 52% mniej) w porównaniu do grupy kontrolnej otrzymującej tylko śladowe ilości miedzi, cynku i manganu.

W przeprowadzonym w Kalifornii populacyjnym badaniu porównawczym przypadków wady dotyczące podziału stożka i pnia naczyniowego u dzieci kobiet przyjmujących we wczesnej ciąży preparaty witaminowe zawierające kwas foliowy stwierdzono, że występowały one o 30% rzadziej.²⁹ Nie wszystkie jednak badania wykazywały korzystne wyniki suplementacji kwasu foliowego w przypadku wad serca.^{30,31}

Trwają badania nad ustaleniem, czy da się ograniczyć częstość występowania rozszczepu wargi z lub bez rozszczepu podniebienia. Metaanaliza wykazała, że można uzyskać około 30% redukcję występowania rozszczepu wargi z lub bez rozszczepu podniebienia.³²

Czy suplementacja kwasu foliowego może być szkodliwa?

Najczęściej omawianym działaniem niepożądanym suplementacji kwasu foliowego jest jej możliwy wpływ na objawy neurologiczne związane z niedoborem witaminy B₁₂.³ Ten problem określa się często mianem maskowania. Niedokrwistość megaloblastyczna wynikająca z niedoboru kwasu foliowego jest klinicznie nie do odróżnienia od niedokrwistości megaloblastycznej z niedoboru witaminy B₁₂. W rezultacie mylnie można ocenić, że drugie z tych schorzeń zostało spowodowane niedoborem folianów. Niedokrwistość megaloblastyczna spowodowana niedoborem witaminy B₁₂ odpowiada na leczenie kwasem foliowym, podobnie jak niedokrwistość megaloblastyczna spowodowana niedoborem folianów. Objawy neurologiczne wywołane niedoborem witaminy B₁₂ nie ustępują jednak po podaniu kwasu foliowego, co powoduje, że konieczne staje się podanie witaminy B₁₂.

Przy leczeniu kwasem foliowym niedokrwistości megaloblastycznej spowodowanej niedoborem witaminy B₁₂

Kluczowe zagadnienia

- Ilość folianów przyjmowana wraz z dietą jest niewystarczająca, aby zapewnić odpowiednie zapotrzebowanie w czasie ciąży.
- Zalecana dawka, mająca na celu zapobieganie ponownemu występowaniu wadom cewy nerwowej u potomstwa, wynosi 4000 $\mu\text{g}/24$ h.
- Suplementacja kwasu foliowego w czasie ciąży może zmniejszyć ryzyko wad serca oraz wad cewy nerwowej.

objawy neurologiczne związane z tym niedoborem pozostają nieleczone i w rezultacie narastają. Głównie z tej przyczyny IOM zaleca, aby dobową suplementacja kwasu foliowego nie przekraczała dawki 1000 μg .⁵ Takie zalecenie górnego limitu jest stosowane przez FDA przy dopuszczaniu do użytku suplementów zawierających sam kwas foliowy lub kwas foliowy w połączeniu z L-5-metylotetrahydrofolianem. Syntetyczny L-5-metylotetrahydrofolian (biodostępna postać folianu) nie powoduje maskującego działania syntetycznego kwasu foliowego.³

Niektóre badania sugerują, że duże stężenie niemetabolizowanych folianów może prowadzić do wzrostu ryzyka powstania raka jelita grubego.^{33,34} U pacjentek ze zmianami złośliwymi „nadmiar” folianów, a co za tym idzie tymidylanu, może ułatwiać podział komórek i prowadzić do rozwoju raka. W populacji ogólnej foliany mogą jednak chronić komórki przed transformacją nowotworową.³⁴ Publikowane ostatnio prace przeglądowe dostarczają dowodów na potwierdzenie tego podwójnego działania folianów otrzymywanych wraz z dietą i w formie suplementu na rozwój raka jelita grubego.^{35,36}

Badania nad rakiem gruczołu krokowego i piersi przynoszą podobne wnioski dotyczące złożoności wpływu folianów na zapobieganie i rozwój nowotworów.^{37,38} Wnioski z ostatnich badań pokazują, że prawidłowe ilości folianów prawdopodobnie nie mają wpływu ani na znaczny wzrost, ani na spadek ryzyka rozwoju raka piersi³⁷ i stercza.³⁸

Podsumowanie

Folian jest nazwą generyczną różnych postaci witamin rozpuszczalnych w wo-

dzie, koniecznych do syntezy tymidylanu. Tymidyna jest niezbędna do syntezy DNA. Kwas foliowy jest syntetyczną postacią folianów i musi zostać zredukowany do L-5-metylotetrahydrofolianu, aby był biologicznie aktywny. Dzięki odpowiedniemu spożyciu kwasu foliowego przez matkę częstość występowania wad cewy nerwowej może być znacznie zmniejszona (aż do 75%).

Wykazano także, że przyjmowanie kwasu foliowego przez matkę prowadzi do rzadszego występowania nieprawidłowości kardiologicznych i dróg moczowych. Średnia ilość folianu otrzymywanego w ramach przeciętnie stosowanej, niewzbogaconej diety (140 $\mu\text{g}/24$ h) jest z pewnością niewystarczająca, aby uzyskać dobowe zapotrzebowanie w wysokości 600 μg , zalecane w przypadku kobiet w wieku reprodukcyjnym. Kwas foliowy pochodzący ze wzbogaconej żywności stanowi wartość tylko kolejnych 128 $\mu\text{g}/24$ h. W związku z tym lekarze powinni zalecać wszystkim kobietom, które mogą zająć w ciążę, aby oprócz spożywania zróżnicowanej diety przyjmowały dobową dawkę kwasu foliowego wynoszącą 400–800 μg , przy czym druga z tych dawek pozwala na szybsze osiągnięcie zalecanego stężenia folianów we krwi.³⁹ Jeśli w poprzedniej ciąży pacjentka urodziła dziecko z wadą cewy nerwowej, zalecane jest przyjmowanie dawki 4000 μg kwasu foliowego na dobę.

Biorąc pod uwagę fakt, że kobiety w wieku rozrodczym rzadko stosują się do zaleceń lekarzy, powinni oni częściej i bardziej dobitnie podkreślać korzyści wynikające z suplementacji kwasu foliowego.

Contemporary OB/GYN, Vol. 51, No. 12, December 2010, p. 34. Closing the folate gap in reproductive-age women.

PIŚMIENNICTWO

- Centers for Disease Control and Prevention. Use of supplements containing folic acid among women of childbearing age—United States, 2007. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2008; 57(1):5-8.
- Kauwell GPA, Diaz M, Yang Q, Bailey LB. Folate: recommended intakes, consumption, and status. In: Bailey LB, ed. *Folate in Health and Disease*. 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor and Francis Group; 2010:467-490.
- Simpson JL, Bailey LB, Pietrzik K, Shane B, Holzgreve W. Micronutrients and women of reproductive potential: required dietary intake and consequences of dietary deficiency or excess. Part I—Folate, Vitamin B12, Vitamin B6. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2010. doi: 10.3109/14767051003678234.
- Yang TL, Hung J, Caudill MA, Urrutia TF, Alamilla A, Perry CA, Li R, Hata H, Cogger EA. A long-term controlled feeding study in young women supports the validity of the 1.7 multiplier in the dietary folate equivalency equation. *J Nutr.* 2005; 135(5):1139-1145.
- Institute of Medicine. Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline. Washington, DC: National Academy Press; 1998.
- Daly LE, Kirke PN, Molloy A, Weir DG, Scott JM. Folate levels and neural tube defects. Implications for prevention. *JAMA.* 1995;274(21):1698-1702.
- Smithells RW, Sheppard S, Schorah CJ, et al. Possible prevention of neural-tube defects by periconceptional vitamin supplementation. *Lancet.* 1980;1(8164):339-340.
- MRC Vitamin Study Research Group. Prevention of neural tube defects: results of the Medical Research Council vitamin study. *Lancet.* 1991;338(8760):131-137.
- Czeizel AE, Dudás I. Prevention of the first occurrence of neural-tube defects by periconceptional vitamin supplementation. *N Engl J Med.* 1992;327(26):1832-1835.
- Berry RJ, Li Z, Erickson JD, et al. Prevention of neural tube defects with folic acid in China. China-U. S. Collaborative Project for Neural Tube Defect Prevention. *N Engl J Med.* 1999; 341(20):1485-1490. Erratum in: *N Engl J Med.* 1999;341(24):1864.
- Mills JL, Rhoads GG, Simpson JL, et al. The absence of a relation between the periconceptional use of vitamins and neural-tube defects. National Institute of Child Health and Human Development and Neural Tube Defects Study Group. *N Engl J Med.* 1989;321(7):430-435.
- Chanarin I. *The Megaloblastic Anaemias*. London, UK: Blackwell; 1969:786-829.
- McPartlin J, Halligan A, Scott JM, Darling M, Weir DG. Accelerated folate breakdown in pregnancy. *Lancet.* 1993;341(8838):148-149.
- Caudill MA, Gregory JF, Hutson AD, Bailey LB. Folate catabolism in pregnant and nonpregnant women with controlled folate intakes. *J Nutr.* 1998;128(2):204-208.
- Higgins JR, Quinlivan EP, McPartlin J, Scott JM, Weir DG, Darling MR. The relationship between increased folate catabolism and the increased requirement for folate in pregnancy. *BIOG.* 2000;107(9):1149-1154.
- Gregory JF 3rd, Caudill MA, Opalko FJ, Bailey LB. Kinetics of folate turnover in pregnant women (second trimester) and nonpregnant controls during folic acid supplementation: stable-isotopic labeling of plasma folate, urinary folate and folate catabolites shows subtle effects of pregnancy on turnover of folate pools. *J Nutr.* 2001;131(7):1928-1937.
- Landon MJ, Hyttén FE. The excretion of folate in pregnancy. *J Obstet Gynaecol Br Commonw.* 1971;78(9):769-775.
- Fleming AF. Urinary excretion of folate in pregnancy. *J Obstet Gynaecol Br Commonw.* 1972;79(10):916-920.
- Bruinse HW, van den Berg H. Changes of some vitamin levels during and after normal pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1995;61(1):31-37.
- US Food and Drug Administration. Food standards: amendment of standards of identity for enriched grain products to require addition of folic acid. Final rule. 21 CFR Parts 136, 137, and 139. *Fed Regist.* 1996;61(44): 8781-8797.
- Yang QH, Carter HK, Mulinare J, Berry RJ, Friedman JM, Erickson JD. Race-ethnicity differences in folic acid intake in women of childbearing age in the United States after folic acid

- fortification: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey, 2001-2002. *Am J Clin Nutr.* 2007;85(5):1409-1416.
- 22.** Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for the use of folic acid to reduce the number of cases of spina bifida and other neural tube defects. *MMWR Recomm Rep.* 1992;41(RR-14):1-7.
- 23.** Henshaw SK. Unintended pregnancy in the United States. *Fam Plann Perspect.* 1998;30(1):24-29,46.
- 24.** Cheschier N; ACOG Committee on Practice Bulletins-Obstetrics. ACOG practice bulletin. Neural tube defects. Number 44, July 2003. (Replaces committee opinion number 252, March 2001). *Int J Gynecol Obstet.* 2003;83(1):123-133.
- 25.** US Preventive Services Task Force. Folic acid for the prevention of neural tube defects: US preventive services task force recommendation statement. *Ann Intern Med.* 2009; 150(9): 626-631.
- 26.** Centers for Disease Control and Prevention. Trends in wheat-flour fortification with folic acid and iron—worldwide, 2004 and 2007. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2008;57(1):8-10.
- 27.** Botto LD, Mulinare J, Erickson JD. Do multivitamin or folic acid supplements reduce the risk for congenital heart defects? Evidence and gaps. *Am J Med Genet.* 2003;121A(2):95-101.
- 28.** Czeizel AE. Reduction of urinary tract and cardiovascular defects by periconceptual multivitamin supplementation. *Am J Med Genet.* 1996;62(2):179-183.
- 29.** Shaw GM, O'Malley CD, Wasserman CR, Tolarova MM, Lammer EJ. Maternal periconceptual use of multivitamins and reduced risk for conotruncal heart defects and limb deficiencies among offspring. *Am J Med Genet.* 1995;59(4):536-545.
- 30.** Scanlon KS, Ferencz C, Loffredo CA, et al. Preconceptional folate intake and malformations of the cardiac outflow tract. Baltimore-Washington Infant Study Group. *Epidemiology.* 1998;9(1):95-98.
- 31.** Werler MM, Hayes C, Louik C, Shapiro S, Mitchell AA. Multivitamin supplementation and risk of birth defects. *Am J Epidemiol.* 1999;150(7):675-682.
- 32.** Badovinac RL, Werler MM, Williams PL, Kelsey KT, Hayes C. Folic acid-containing supplement consumption during pregnancy and risk for oral clefts: a meta-analysis. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2007;79(1):8-15.
- 33.** Mason JB, Dickstein A, Jacques PF, et al. A temporal association between folic acid fortification and an increase in colorectal cancer rates may be illuminating important biological principles: a hypothesis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007;16(7):1325-1329.
- 34.** Sanjoaquin MA, Allen N, Couto E, Roddam AW, Key TJ. Folate intake and colorectal cancer risk: a meta-analytical approach. *Int J Cancer.* 2005;113(5):825-828.
- 35.** Mathers JC. Folate intake and bowel cancer risk. *Genes Nutr.* 2009;4(3):173-178.
- 36.** Hubner RA, Houlston RS. Folate and colorectal cancer prevention. *Br J Cancer.* 2009;100(2):233-239.
- 37.** Kim YI. Does a high folate intake increase the risk of breast cancer? *Nutr Rev.* 2006;64(10 pt 1):468-475.
- 38.** Figueiredo JC, Grau MV, Haile RW, et al. Folic acid and risk of prostate cancer: results from a randomized clinical trial. *J Natl Cancer Inst.* 2009;101(6):432-435.
- 39.** Bramswig S, Prinz-Langenohl, Lamers Y, et al. Supplementation with a multivitamin containing 800 microg of folic acid shortens the time to reach the preventive red blood cell folate concentration in healthy women. *Int J Vitam Nutr Res.* 2009; 79(2):61-70.