

# Kyselina listová a prevence rozštěpových vad centrálního nervového systému

## Folic acid and prevention of the neural tube defects

Doležalková E.<sup>1</sup>, Unzeitig V.<sup>1, 2, 3</sup>

<sup>1</sup>Porodnicko-gynekologická klinika OU a FN, Ostrava, přednosta doc. MUDr. V. Unzeitig, CSc.

<sup>2</sup>Gynekologicko-porodnická klinika MU a FN, Brno, přednosta prof. MUDr. P. Ventruba, DrSc., MBA

<sup>3</sup>Centrum ambulantní gynekologie a primární péče, Brno, vedoucí lékař MUDr. V. Dvořák

### ABSTRACT

**Objective:** Overview of neural tube defect in relation to use of folic acid among fertile-age women.

**Design:** Review article.

**Setting:** Obstetrics and gynecology department OU and FN Ostrava.

**Methods and results:** Neural tube defects (NTDs) are one of the most common birth defects in the Czech Republic. The relation between using of folic acid and decrease of the incidence NTDs was first described in 1965. Fertile-age women are not able to get enough folate from their diet, therefore right timing and proper dosing of folic acid is the object of numerous studies. Many countries started their food

fortification programs because of the high percentage of unplanned pregnancies and often low compliance.

**Conclusion:** The role of folic acid in prevention of NTDs is undeniable. Due to the large number of unplanned pregnancies long-term supplementation is recommended for all fertile-age women. If pregnancy is planned, the supplementation should begin at least one month before pregnancy. In both cases it is necessary to continue until the end of the week of 12. dosage should be individualized according to risk.

### KEYWORDS

**neural tube defects, risk factors, folic acid, supplementation, fortification**

### SOUHRN

**Cíl studie:** Přehled problematiky výskytu rozštěpových vad CNS ve vztahu k užívání kyseliny listové v perikoncepčním období.

**Typ studie:** Přehledový článek.

**Název a sídlo pracoviště:** Porodnicko-gynekologická klinika OU a FN Ostrava.

**Předmět a metoda studie:** Rozštěpové vady CNS (NTDs) jsou jednou z nejčastějších vrozených vad v ČR. Spojitost mezi užíváním kyseliny listové (KL) a snížením incidence NTDs byla popsána již v roce 1965. Ženy ve fertilním věku nejsou schopny získat dostatečné množství folátů z běžné stravy, a proto je předmětem četných studií správné načasování a adekvátní dávkování KL. Pro

vysoké procento neplánovaných gravidit a často nízkou compliance zavedly mnohé země do praxe programy fortifikace potravin.

**Závěr:** Role kyseliny listové v prevenci NTDs je nepopíratelná. Vzhledem k velkému množství neplánovaných gravidit je vhodné doporučit všem ženám ve fertilním věku dlouhodobou suplementaci. Pokud jde o plánovanou graviditu, pak by suplementace měla začít nejméně měsíc před otěhotněním. V obou případech je nutno pokračovat alespoň do konce 12. týdne gravidity. Dávkování je nutno individualizovat podle míry rizika.

### KLÍČOVÁ SLOVA

**rozštěpové vady CNS, rizikové faktory, kyselina listová, suplementace, fortifikace**

Čes. Gynek., 2014, 79, č. 2, s. 134–139

## ÚVOD

Rozštěpové vady CNS (NTDs – neural tube defects) jsou jedny z nejčastěji se vyskytujících vrozených abnormalit. Jejich příčinou jsou poruchy uzavírání primitivní neurální trubice v časných stadiích embryonálního vývoje – v období, kdy většina žen ve vyspělých zemích přichází poprvé k diagnostice těhotenství [31]. Definitivní ukončení procesu uzavírání neurální trubice totiž nastává již 22–28 dnů po koncepci.

Pod diagnózou NTDs si většinou představujeme dva nejčastější nálezy: anencefalii, značící absenci mozkové tkáně a lebního krytu včetně kůže, a spinu bifida neboli rozštěp páteřního kanálu s herniací samotné míchy nebo míšních obalů. Přítomnost či absence kožního krytu nad defektem dělí spinu bifida na defekty kryté nebo nekryté kůží. Anencefalie spolu se spinou bifida představují více než 90 % všech NTDs. Na rozdíl od anencefalie, kdy plod zmírá většinou intrauterinně, je spina bifida se životem slučitelná. Jedinec postižený touto vadou však často trpí významným neurologickým postižením lokalizovaným distálně od místa herniace s omezením motorických funkcí. Často vyžaduje již v útlém věku chirurgickou intervenci [35].

## VÝSKYT ROZŠTĚPOVÝCH VAD CNS

V populaci se prevalence NTDs pohybuje od 0,8 do 3 případů na 1000 živě narozených dětí, přičemž celosvětově je každoročně evidováno přibližně 300 000 nových případů [4]. V České republice bylo v roce 2010 prenatálně diagnostikováno a ukončeno pět případů rozštěpů páteřního kanálu a sedm dětí postižených touto vadou bylo porozeno. Anencefalie byla prenatálně diagnostikována za stejné období u 8 plodů, živé dítě s touto vadou porozeno nebylo [45]. Prenatální diagnostika je založena na podrobném ultrazvukovém vyšetření. Anencefalii lze velmi dobře diagnostikovat již v I. trimestru těhotenství, nález spiny bifida je častější spíše u vyšetření ve II. trimestru. Recentní práce však poukazují na možnost diagnostiky spiny bifida pomocí ultrazvukového posouzení oblasti mozkového kmene a zadní jámy lební již na konci prvního trimestru [2]. Alfafetoprotein jako biochemický marker NTDs nekrytých kůží je pro svou nízkou specifitu postupně nahrazován detailním ultrazvukovým posouzením celistvosti páteře a lebního krytu, které jediné může NTDs potvrdit, nebo vyloučit.

Etiologie NTDs nebyla zatím zcela objasněna a předpokládá se multifaktoriální působení. Jako jeden z potvrzených faktorů se uvádí genetická dispozice, která již byla doložena řadou studií popisujících koincidenci výskytu NTDs v posti-

žených rodinách a mezi dvojčaty [6]. Narodí-li se zdravým rodičům takto postižené dítě, je riziko opakování vady v dalších graviditách trojnásobně až pětinasobně vyšší. Taktéž potomci postižených rodičů mají přibližně 10krát větší riziko výskytu NTDs [28].

Z genetického hlediska je nutno zmínit některé polymorfismy. Například přítomnost alely C677T je spojena s výrazně sníženou účinností 5,10-metylentetrahydrofolátreduktázy. Taková porucha metabolismu folátů je spojena se zvýšenou incidencí NTDs [5]. Zvýšené riziko bylo pozorováno i u některých etnických skupin, zejména u Irů [39] a hispánců [43].

Také některé metabolické vady jsou spojeny s výskytem NTDs – obezita zvyšuje riziko NTDs [40] a diabetické matky mají dvakrát častější výskyt spiny bifida a třikrát častější anencefalické plody [16]. V neposlední řadě jsou tu také faktory životního prostředí, socioekonomický status, sezonní výskyt nebo geografická variabilita [19, 51].

## FOLÁTY A GRAVIDITA

Spojitosť mezi nízkou hladinou folátů a zvýšeným výskytem NTDs byla poprvé popsána v roce 1965 [20]. Od té doby byla publikována řada randomizovaných studií podporujících hypotézu protektivního působení folátů na výskyt NTDs. Nedokážeme zatím přesně říci, jak tato jejich protektivní schopnost funguje. Stále totiž zůstává mnoho nezodpovězených otázek týkajících se samotného vývoje neurální trubice a CNS. Víme však, že folát (ve vodě rozpustný vitamin B9) je jednou z esenciálních látek podílejících se na replikaci DNA. Že je přítomen v řadě enzymatických reakcí při syntéze aminokyselin a hraje velmi důležitou roli v perikoncepčním období. Kyselina listová (dále KL) je synteticky připravená nejstabilnější forma folátu, jehož biodostupnost je téměř o 70 % vyšší než v případě folátu přírodního [34]. Příjem folátů stravou je navíc snižován jejich částečným navázáním na nestrávitelné části potravy a také jejich znehodnocením již při samotné přípravě jídla.

Podle WHO byla v roce 2008 stanovena spodní hranice hladiny definující nedostatek folátů na 10 nmol/l pro sérum a 340 nmol/l pro erytrocyty. Tyto hodnoty však nejsou všeobecně platné pro těhotenství, protože hladina folátů během gestace postupně klesá – pravděpodobně následkem fyziologické hemodiluce. Po porodu se koncentrace rychle vrací zpět k původním hodnotám.

Nedostatek folátů není spojován pouze s NTDs, ale je mu přisuzována i řada dalších vrozených vad – například vrozené vady srdce, defekty končetin, rozštěpy patra a rtu, kongenitální hydrocefalus,

vady močového ústrojí a také zvýšená incidence Downova syndromu [15].

Existují nepřímé důkazy o jeho úloze v každé iniciačního mechanismu porodu. V letech 1999–2002 proběhla v USA velká studie, do které bylo zahrnuto 34 480 žen s jednočetnou graviditou s termínem porodu určeným podle CRL. Tyto ženy spontánně porodily nebo potratily v rozmezí od 20. do 42. týdne gestace, přičemž hranice předčasného porodu byla stanovena na ukončený 37. týden. U všech žen byly prověřeny jejich stravovací návyky se zřetelem na užívání a výši dávky KL v perikoncepčním období. U těhotných, které přidávaly foláty ke stravě více než rok, byl zaznamenán pokles spontánních předčasných porodů. Autoři usoudili, že toto snížení rizika prematurity má silnou asociaci s KL a že délka užívání je stejně důležitá jako dávka [7]. Přesný mechanismus, kterým dochází k redukci předčasných porodů, není zatím znám. Předpokládá se však, že většina těchto porodů je spojena s abnormální zánětlivou odpovědí, přičemž KL je důležitým faktorem spolupodílejícím se na normální funkci imunitního systému [11, 23].

Objevila se také řada studií zabývajících se efektem KL na funkci placenty. U těhotných žen užívajících antagonisty KL byl zaznamenán zvýšený výskyt komplikací typu preeklampsie, abrupce placenty, IUGR či nitroděložní smrti plodu. Tyto komplikace mají jedno společné – poruchu placentace v časných stadiích gravidity [47]. KL je tedy i důležitým faktorem regulace trofoblastické invaze [49].

Rozsáhlá norská studie, úkolem které bylo zhodnotit účinek perikoncepčního užívání KL na riziko pozdějšího vývoje autistických poruch, se uskutečnila v letech 2002–2008. Studie byla zaměřena hlavně na těžkou formu autistických poruch. I když její výsledek neprokázal jasnou příčinnou souvislost, podpořila doporučení suplementace KL před otěhotněním a v prvních týdnech těhotenství, které jsou pro správný vývoj mozku nej důležitější [44].

## SUPLEMENTACE

Jsou tedy ženy ve fertilním věku schopny přijmout dostatečné množství folátů pouze z běžné stravy? Podle doporučení Centre of Disease Control (CDC) z roku 1992 by měl denní příjem KL dosáhnout alespoň 400 µg. Vezmeme-li však v úvahu biodostupnost dané látky, měl by se denní příjem přírodního folátu pohybovat okolo tisíce µg [50]. Naše běžné dietní návyky však obsahují jen asi 200 µg za den. Proto Institute of Medicine od roku 1998 doporučuje ženám plánujícím graviditu přidat ke své běžné stravě nejméně 400 µg KL denně [24].

Otázku, jaká je minimální efektivní dávka folátů v prevenci NTDs, však není lehké zodpovědět. Některé studie proto zkoumají dávky KL v korelaci s její koncentrací v těle matky. Daly et al. se zabývali dávkou folátů nutnou k dosažení jeho dostatečného množství v erytrocytech [14]. Ženy s hladinou nižší než 150 µg/l měly zvýšené riziko výskytu NTDs a ženy s hladinou vyšší než 400 µg/l měly naopak riziko sníženo až o 60 %. Autoři usoudili, že zvýšení dávky nad 400 µg je následováno již jen malým snížením rizika. Do kontrastu lze postavit rešerši 13 studií od Walda et al. z roku 2001, ze které vyplynulo doporučení na zvýšení denního příjmu kyseliny listové na 5 mg. Podle jejich zjištění se riziko NTDs výrazně snižuje s rostoucí dávkou: 0,4 mg/d dokáže snížit riziko o 23–54 %, 5 mg/d vede k 85% snížení rizika [46]. Nutno zmínit také velkou randomizovanou studii z Maďarska z roku 1992 [12], kdy zkoumaná a posléze i doporučovaná suplementační dávka byla 0,8 mg/den. Tyto výsledky byly následně ověřeny opakovaním výzkumu v roce 2004 [13].

Ve snaze zvýšit compliance zkoumali autoři v některých studiích vyšší dávku KL podávanou jen jednou týdně. Aplikace 5 mg jednou týdně po dobu 3 měsíců snížila v Mexiku incidenci NTDs o 50 % [32]. Podobnou strategii s porovnatelnými výsledky měla i novozélandská studie, kde týdenní dávka byla 2,8 mg [36].

Dodnes neexistuje jednoznačný konsenzus ohledně dávkování KL v prevenci NTDs. V USA je aktuálně doporučená dávka u žen s vysokým rizikem NTDs 4 mg/d, se začátkem podávání alespoň měsíc před plánovanou koncepcí a dále v průběhu celého prvního trimestru. U žen bez anamnestické zátěže by mohla být tato dávka podle CDC redukována na 0,4 mg/d [10]. Kanada ve svém Motherisk programu propaguje pro všechny ženy plánující graviditu příjem 5 mg folátů denně. Doporučení vzniklo jako reakce na výsledek studie, která po plošném nařízení fortifikace potravin KL prokázala u 40 % žen v Ontariu její nedostatečnou koncentraci [30]. V evropských zemích již takto jednotná doporučení většinou nenalezneme – některé se řídí doporučením CDC, jiné nemají žádná specifická doporučení nebo preferují pouze přírodní, nesyntetický zdroj folátů [8].

Institute of Medicine stanovil v roce 1998 horní hranici dávky KL na 1 mg/den. Je to jedna pětina množství, které by mohlo způsobit případné nežádoucí účinky [25]. Vysoké dávky (5 mg/d KL) jsou schopny potenciálně maskovat nedostatek vitamínu B12, což může vést nejen ke zhoršení anémie asociované s nedostatkem tohoto vitamínu, ale i k ireverzibilním neuropatiím [26]. Přímé toxické poškození bylo zaznamenáno až při dávkách 15–100 mg/d [9].

## FORTIFIKAČNÍ PROGRAMY

Motivování žen k užívání KL před plánovanou graviditou by mělo být důležitou součástí veřejného zdravotnictví. Problémem však zůstává fakt, že téměř 50 % všech gravidit je neplánovaných. A i přes existenci nepřeborného množství knih a odborných článků o správné životosprávě a stravování v graviditě je jen velmi málo žen ochotno své stravovací návyky v průběhu gravidity změnit. Pokud bychom se v osvětové činnosti zaměřili jenom na ženy s vysokým rizikem, zabránili bychom vzniku pouze 10 % ze všech NTDs. Z těchto důvodů některé státy přistoupily k obohacování celozrnných potravin KL. První fortifikační program byl zahájen v roce 1996 v USA, kde se také stal od roku 1998 programem povinným [18]. Do roku 2008 zavedlo obohacování mouky KL přes 60 zemí světa, což představuje asi 30 % celosvětového množství produkce mouky a pokrývá přibližně 27 % světové populace [1]. V členských státech EU je program fortifikace dobrovolný a existuje přísná kontrola nad množstvím přidávaných potravinových mikroživin. Incidence NTDs po zavedení fortifikace v jednotlivých zemích klesla z 10,6–17,0 na 6,3–10,0 případů na 10 000 živě narozených dětí. Je tedy pravděpodobné, že nejnižší možná incidence NTDs, které jsme schopni dosáhnout pomocí obohacování potravin KL, se pohybuje kolem 5–6 případů na 10 000 živě narozených. Zbylé případy jsou vyvolány jinými faktory a nejsou již dále závislé na množství folátů [2]. Funkčnost jednotlivých fortifikačních programů je poměrně obtížné posoudit. Postupné snižování incidence NTDs bylo celosvětově pozorováno již před samotným započetím fortifikace.

Plošná fortifikace potravin má ovšem také svá úskalí. Vyšším dávkám folátů jsou dlouhodobě vystaveny nejen ženy ve fertilním věku, ale i celá populace konzumující takto obohacené produkty. Po zavedení fortifikačních programů se nad horní hranici sérové koncentrace folátů (45 nmol/l) nachází přibližně 23 % americké populace včetně 43 % dětí mladších 5 let a 38 % seniorů [37].

## RIZIKA SUPLEMENTACE

Jednou z nejdiskutovanějších oblastí je vliv KL na možnou potenciaci nádorových onemocnění. Data, vycházející z USA, Kanady a Chile, popisují krátce po zavedení fortifikačních programů značný nárůst incidence kolorektálního karcinomu [21, 22, 33]. Je velmi pravděpodobné, že KL zde může hrát dvojí úlohu. Na jedné straně může její nedostatek iniciovat karcinogenezi destabilizací genomu cestou zvýšení hladiny homocysteinu,

zásehlem do metylace, misinkorporací uracilu nebo vznikem dvojitého zlomu v DNA [3, 41]. Na straně druhé – při již přítomném karcinomu – může zvýšení hladin folátů dále potencovat proliferaci buněk, a tím se podílet na progresi nádorového onemocnění [29, 33]. Existují prospektivní studie zabývající se korelací vysoké sérové hladiny folátů s karcinogenezí. V souboru 25 tisíc postmenopauzálních žen užívajících 400 µg KL denně došlo ke zvýšení rizika karcinomu prsu o 19 %. Dvojnásobná denní dávka zvýšila toto riziko až na 32 % [42]. Dvě norské studie nečekaně ukázaly, že suplementace 800 µg KL na den po dobu více než 3 let vede ke zvýšení rizika rakoviny plic o 21 % [17].

## ZÁVĚR

Je nepopiratelné, že KL hraje důležitou roli v prevenci NTDs. Značný vliv má nejenom adekvátní dávka, ale i správné načasování. S ohledem na značné množství neplánovaných gravidit je vhodné každé ženě ve fertilním věku doporučit dlouhodobou suplementaci. V ideálním případě by žena plánující graviditu měla začít užívat KL měsíc před otěhotněním a pokračovat v této aplikaci do konce 3. měsíce gravidity. Snad nejvíce ucelený systém prevence nalezneme v USA, kde se v zásadě drží denní dávky folátů 600–1000 µg. To odpovídá suplementaci 400–800 µg kyseliny listové při běžném stravovacím režimu, přičemž ženy v USA profitují i z fortifikované mouky a cereálií. Ženy s vysokým rizikem NTDs by měly zvýšit dávku na 4 mg/den.

Potíže mohou nastat u žen s poruchou metabolismu KL. Jak přírodní folát, tak KL jsou neaktivní formy a musí být redukovány do L-methyltetrahydrofolátu. Ten cirkuluje v plazmě a vstupuje do jednotlivých biologických procesů [38, 48]. Také některá antikonvulziva mohou významně ovlivňovat hladiny kyseliny listové. Ženy, které užívají v těhotenství fenytoin, fenobarbital nebo primidon, mají sníženou hladinu kyseliny listové v séru, erytrocytech i mozkomíšním moku. Vztah mezi koncentrací antikonvulziv a hladinou kyseliny listové však není jednoduchý – úprava hladin folátů má za následek například snížení koncentrace fenytoinu v séru akcelerací jeho metabolismu. Protože však deficit kyseliny listové v mateřském organismu může vyvolat patologický průběh těhotenství, doporučují neurologové podávat 5 mg kyseliny listové denně, pokud možno 3 měsíce před počatím a nejméně první 3 měsíce těhotenství [27].

# Kyselina listová a gravidita

## DOPORUČENÍ ČESKÉ GYNEKOLOGICKÉ A PORODNICKÉ SPOLEČNOSTI ČLS JEP

<b>Cílová skupina:</b>	ženy ve fertilním věku nebo plánující graviditu
<b>Denní dávka:</b> <b>Doba aplikace:</b>	0,4 mg - 0,8 mg (400-800 µg) kyseliny listové zahájit nejméně 1 měsíc před otěhotněním, užívat nejméně do konce 12. týdne těhotenství
<b>Zvýšené riziko výskytu NTD:</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• NTD v rodinné anamnéze</li><li>• užívání určitých antiepileptik</li><li>• mutace v metabolismu folátů</li><li>• diabetes mellitus</li><li>• obezita</li></ul>
<b>Poznámka:</b>	výše uvedená denní dávka není dostačující u žen s výskytem NTD v předchozí graviditě nebo u žen užívajících fenytoin, fenobarbital nebo primidon. Tyto ženy by měly užívat až 4 mg kyseliny listové denně.
Doporučení jiných organizací:	ACOG, AAFP a mnohé jiné organizace doporučují ženám s anamnézou NTD v předchozí graviditě dávku 4 mg kyseliny listové denně.

ACOG: American College of Obstetrician and Gynecologists, AAFP: American Academy of Family Physicians  
Publikováno v Ann Intern Med, 2009, 150. p. 620

### LITERATURA

1. **Bell, KN., Oakley, GP.** Update on prevention of folic acid-preventable spina bifida and anencephaly. Birth Defects Research Part A: Clin Mol Teratol. 2009, 85(1), p. 102-107.
2. **Berry, RJ., et al.** Folic acid fortification: neural tube defect risk reduction - a global perspective. In Folate in health and disease, 2nd ed. Bailey, LB., Ed. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 2010, p. 179-204.
3. **Bollheimer, LC., et al.** Folate and its preventive potential in colorectal carcinogenesis. How strong is the biological and epidemiological evidence? Crit Rev Oncol Hematol, 2005, 55(1), p. 13-36.
4. **Botto, LD., et al.** Neural-tube defects. N Engl J Med, 1999, 11, 341(20), p. 1509-1519.
5. **Botto, LD., Yang, Q.** 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: A HuGE Review. Am J Epidemiol, 2000, 1, 151(9), p. 862-877.
6. **Budhiraja, S., et al.** Neural-tube defect in dizygotic twins. Ped Surg Intl, 2002, 8, 18(2), p. 211-212.
7. **Bukowski, R., et al.** Preconceptional folate supplementation and the risk of spontaneous preterm birth: a cohort study. PLoS Med, 2009, 6, e1000061.
8. **Busby, A., et al.** Preventing neural tube defects in Europe: A missed opportunity. Reprod Toxicol, 2005, 20(3), p. 393-402.
9. **Butterworth, Jr. CE., Tamura, T.** Folic acid safety and toxicity: a brief review. Am J Clin Nutr, 1989, 50, 2, p. 353-358.
10. **Centers for Disease Control** Recommendations for the use of folic acid to reduce the number of cases of spina bifida and other neural tube defects MMWR. 1992, 41(RR-14).
11. **Courtemanche, C., et al.** Folate deficiency inhibits the proliferation of primary human CD8+ T lymphocytes in vitro. J Immunol, 2004, 173, p. 3186-3192.
12. **Czeizel, AE., Dudás, I.** Prevention of the first occurrence of neural-tube defects by periconceptional vitamin supplementation. N Engl J Med, 1992, 24, 327(26), p. 1832-1835.
13. **Czeizel, AE., Dobó, M., Vargha, P.** Hungarian cohort-controlled trial of periconceptional multivitamin supplementation shows a reduction in certain congenital abnormalities. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol, 2004, 70(11), p. 853-861.
14. **Daly, S., et al.** Minimum effective dose of folic acid for food fortification to prevent neural-tube defects. Lancet, 1997, 6, 350(9092), p. 1666-1669.
15. **De-Regil, LM., et al.** Effect and safety of periconceptional folate supplementation for preventing birth defect (Review). The Cochrane Library 2010; issue 10.
16. **Dheen, ST., et al.** Recent studies on neural tube defects in embryos of diabetic pregnancy: An overview. Curr Med Chem, 2009, 16(18), p. 2345-2354.
17. **Ebbing, M., et al.** Cancer incidence and mortality after treatment with folic acid and vitamin B12. JAMA, 2009, 302, p. 2119-2126.
18. **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, p. 8781-8789.

19. **Frey, L., Hauser, WA.** Epidemiology of neural tube defects. *Epilepsia*, 2003, 44(Suppl), p. 34.
20. **Hibbard, BM., et al.** Folic acid and reproduction. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 1965, 44, p. 375-400.
21. **Hirsch, S., et al.** Colon cancer in Chile before and after the start of the flour fortification program with folic acid. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2009, 21(4), p. 436-439.
22. **Hubner, RA., Houlston, RS.** Folate and colorectal cancer prevention. *Br J Cancer*, 2009, 27, 100(2), p. 233-239.
23. **Christian, P., et al.** Antenatal supplementation with micronutrients and biochemical indicators of status and subclinical infection in rural Nepal. *Am J Clin Nutr*, 2006, 83, p. 788-794.
24. **Institute of Medicine Washington, DC.** Dietary reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B6, folate, vitamin B12, pantothenic acid, biotin, and choline: A report of the standing committee on the scientific evaluation of dietary reference intakes and its panel on folate, other B vitamins, and choline and subcommittee on upper reference levels of nutrients. Washington, DC: National Academy Press, 2000, p. 357-373.
25. **Institute of Medicine Washington, DC.** Folate. In *Dietary reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B6, folate, vitamin B12, pantothenic acid, biotin, and choline*. Washington, DC: National Academy Press, 1998, p. 196-305.
26. **Institute of Medicine Washington, DC.** Dietary reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B6, folate, vitamin B12, pantothenic acid, biotin, and choline: A report of the standing committee on the scientific evaluation of dietary reference intakes and its panel of folate, other B vitamins, and choline and subcommittee on upper reference levels of nutrients. Washington, DC: National Academies Press, 1998, p. 55-422.
27. **Jedlička, P., Keller, O., et al.** Speciální neurologie. Praha: Galén, 2005, p. 170-172.
28. **Kibar, Z., et al.** Toward understanding the genetic basis of neural tube defects. *Clin Genetics*, 2007, 71(4), p. 295-310.
29. **Kim, Y.** Folate: A magic bullet or a double-edged sword for colorectal cancer prevention? *Gut*, 2006, 55(10), p. 1387-1389.
30. **Koren, G., et al.** Folic acid: The right dose. *Can Fam Physician*, 2008, 54(11), p. 1545-1547.
31. **Lumley, J., et al.** Periconceptional supplementation with folate and/or multivitamins for preventing neural tube defects. *Cochrane Database Syst Rev*, 2001(3):CD001056.
32. **Martínez de Villarreal, L., et al.** Decline of neural tube defects cases after a folic acid campaign in Nuevo León, México. *Teratol*, 2002, 66(5), p. 249-256.
33. **Mason, JB.** Folate, cancer risk, and the Greek god, Proteus: A tale of two chameleons. *Nutr Rev*, 2009, 67(4), p. 206-212.
34. **McNulty, H., Pentieva, K.** Folate bioavailability. *Proceedings of the Nutrition Society*, 2004, 63(4), p. 529-536.
35. **Mitchell, LE., et al.** Spina bifida. *Lancet*, 2004, 20, 364(9448), p. 1885-1895.
36. **Norsworthy, B., et al.** Effects of once-a-week or daily folic acid supplementation on red blood cell folate concentrations in women. *Eur J Clin Nutr*, 2004, 58(3), p. 548-554.
37. **Pfeiffer, CM., et al.** Biochemical indicators of B vitamin status in the US population after folic acid fortification: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2000. *Am J Clin Nutr*, 2005, 82, p. 442-450.
38. **Pietrzik, K., et al.** Folic acid and l-5-methyltetrahydrofolate: comparison of clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clin Pharmacokinet*, 2010, 48, p. 535-548.
39. **Seller, MJ., Nevin, NC.** Periconceptional vitamin supplementation and the prevention of neural tube defects in south-east England and Northern Ireland. *J Med Genet*, 1984, 1, 21(5), p. 325-330.
40. **Shaw, GM., Quach, T., Nelson, V., et al.** Neural tube defects associated with maternal periconceptional dietary intake of simple sugars and glycemic index. *Am J Clin Nutr*, 2003, 78(5), p. 972-978.
41. **Solomons, NW.** Food fortification with folic acid: Has the other shoe dropped? *Nutrition Rev*, 2007, 65(11), p. 512-515.
42. **Stolzenberg-Solomon, RZ., et al.** Folate intake, alcohol use, and postmenopausal breast cancer risk in the Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian Cancer Screening Trial. *Am J Clin Nutr*, 2006, 83, p. 895-904.
43. **Suarez, L., et al.** Neural tube defects among Mexican Americans living on the US-Mexico border: Effects of folic acid and dietary folate. *Am J Epidemiol*, 2000, 1, 152(11), p. 1017-1023.
44. **Surén, P., Roth, C., Bresnahan, M., et al.** Association between maternal use of folic acid supplements and risk of autism spectrum disorders in children. *JAMA*, 2013, 309(6), p. 570-577.
45. **Šípek, A.** Počet vybraných vrozených vad u narozených dětí a u případů prenatalně diagnostikovaných v ČR v roce 2009 a 2010. *Národní registr vrozených vad České republiky*, 2011, 15, p. 2-4.
46. **Wald, NJ., et al.** Quantifying the effect of folic acid. *Lancet*, 2001, 15, 358(9298), p. 2069-2073.
47. **Wen, SW., et al.** Maternal exposure to folic acid antagonists and placenta mediated adverse pregnancy outcomes. *CMAJ*, 2008, 179, p. 1263-1268.
48. **Wilcken, B., et al.** Geographical and ethnic variation of the 677C>T allele of 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): Findings from over 7000 newborns from 16 areas world wide. *J Med Genet*, 2003, 1, 40(8), p. 619-625.
49. **Williams, PJ., et al.** Possible roles for folic acid in the regulation of trophoblast invasion and placental development in normal early human pregnancy. *Biol Reprod*, 2011, 84, p. 1148-1153.
50. **Wyszynski, D.** Neural tube defects: From origin to treatment. New York: Oxford University Press, 2006.
51. **Yang, J., et al.** Socioeconomic status in relation to selected birth defects in a large multicentered US case-control study. *Am J Epidemiol*, 2008, 15, 167(2), p. 145-154.

**Doc. MUDr. Vít Unzeitig, CSc.**  
**Porodnicko-gynekologická klinika OU a FN**  
**17. listopadu 1790/5**  
**708 00 Ostrava**  
**vit@unzeitig.info**