

Stanowisko Ekspertów Polskiego Towarzystwa Ginekologów i Położników w zakresie suplementacji aktywnych folianów, choliny i witamin B6 i B12 w okresie przedkoncepcyjnym, ciąży i porodu

Agnieszka Seremak Mrozikiewicz

Dorota Bomba Opoń

Krzysztof Drews

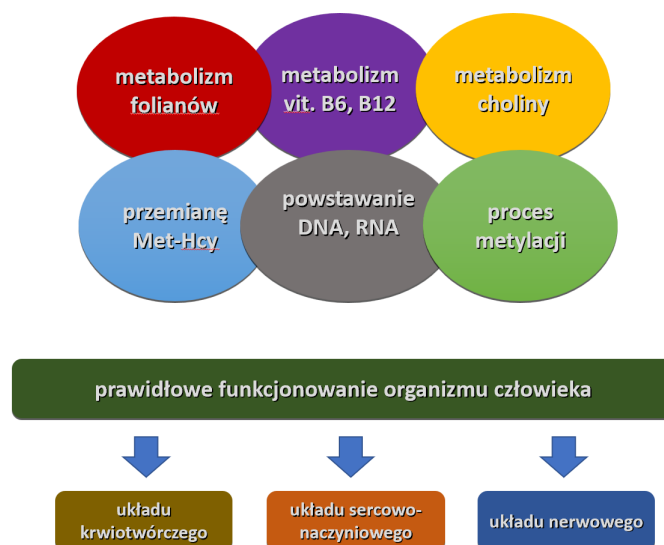
Piotr Kaczmarek

Mirosław Wielgoś

Piotr Sieroszewski

Suplementacja folianów w czasie ciąży w celu zapobiegania wadom cewy nerwowej płodu jest powszechnie uznanym standardem postępowania. Bardziej kontrowersyjne są inne możliwe korzyści podawania folianów w ciąży, dyskusji podlega także najbardziej efektywna forma suplementacji folianów.

Kwas foliowy (kwas pteroilomonoglutaminowy), rozpuszczalna w wodzie witamina B9, jest formą występującą we wzbożonej żywności i suplementach diety. Ta forma jest nieaktywna w organizmie człowieka, ale stanowi prekursor substancji bioaktywnej - 5-metylotetrahydrofolianu (5-MTHF), która powstaje przy udziale reduktazy metylenotetrahydrofolianowej (MTHFR). Przez ponad 30 lat kwas foliowy był preferowaną formą folianów w suplementach i lekach, ale od momentu syntezy jego aktywnej formy coraz więcej dowodów medycznych wskazuje na przewagę zastosowania naturalnie występującej formy folianów. Ostatnie lata przynoszą również dyskusje na temat ryzyka skutków ubocznych suplementacji kwasu foliowego nie tylko u osób, które wolniej metabolizują ten związek (nosiciele wariantów hetero- i homozygotycznych MTHFR), ale również w populacji ogólnej. W celu usprawnienia przebiegu szlaku folianów niezbędna jest nie tylko podaż właściwej formy witaminy B9, ale również podaż substancji, które aktywnie wspierają procesy tego szlaku, cholina oraz witamin B6 i B12.



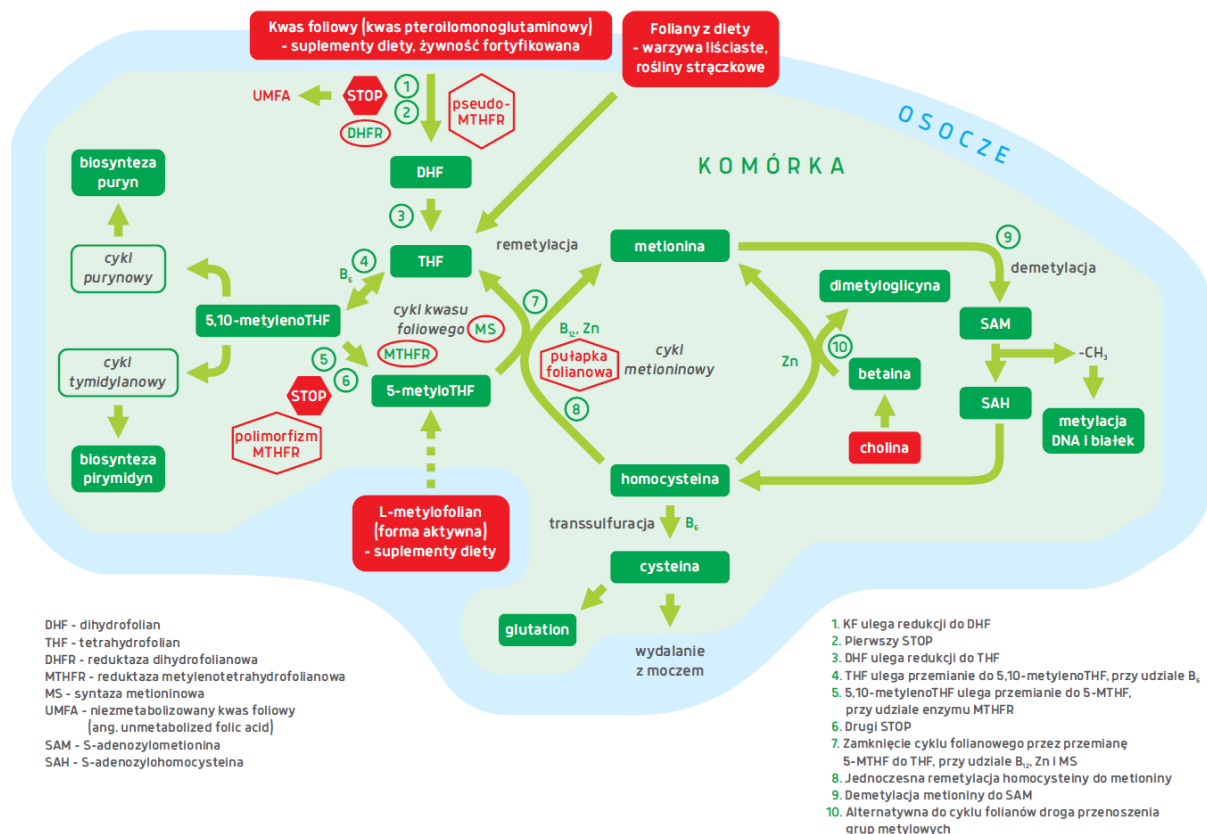
Rycina 1. Rola folianów, choliny i witamin B6 i B12 w organizmie.

Rola folianów przed ciążą, w ciąży i połogu.

Znaczenie szlaku folianów

Proces przemiany folianów dostarczonych z żywnością lub w postaci suplementów diety, jest jednym z najistotniejszych szlaków metabolicznych zachodzących w komórce. Szlak ten wpływa na prawidłowe funkcjonowanie wielu układów i narządów, w tym szczególnie układu krwiotwórczego, sercowo-naczyniowego oraz nerwowego.

W wyniku szeregu przemian biochemicznych powstaje aktywna postać kwasu foliowego: 5-metylotetrahydrofolian (5-MTHF), który może być bezpośrednio włączony w procesy biologiczne komórki (Rycina 2). Prawidłowość tych przemian jest uzależniona m.in. od odpowiedniej podaży folianów, właściwej aktywności enzymów oraz obecności niezbędnych do zainicjowania reakcji biochemicznych kofaktorów, którymi na różnych etapach są m.in. witaminy z grupy B (B₂, B₆, B₁₂) oraz cynk.



Rycina 2. Schemat przemian metabolicznych folianów.

Cykl kwasu foliowego reguluje metabolizm aminokwasów, kwasów nukleinowych oraz wzrost i różnicowanie komórek, zatem prawidłowość przemian folianów jest jednym z czynników warunkujących prawidłowy rozwój płodu. Wszelkie zaburzenia w ich metabolizmie, mogą zwiększać ryzyko wystąpienia wad płodu takich jak: wady cewy nerwowej (m.in. rozszczep kręgosłupa, przepuklina mózgowo-rdzeniowa), zespół Downa, rozszczep wargi i podniebienia. Zaburzenia przemian folianów mogą prowadzić również do hiperhomocysteinemii zwiększającej ryzyko wystąpienia powikłań w ciąży [1, 2, 3] m.in. skorelowanej z małą masą urodzeniową dziecka [4].

Znaczenie folianów w procesie metylacji

Efektem prawidłowo zachodzących przemian folianów jest metylacja DNA i białek, do której dochodzi na drodze remetylacji homocysteiny do metioniny, a następnie jej konwersji do S-adenozylometioniny (SAM), będącej głównym donorem grup metylowych. Metylacja związków, w tym kwasów nukleinowych i białek, jest procesem niezbędnym do prawidłowego rozwoju zarodka i płodu. W organizmie człowieka zachodzi ponad 100 różnych reakcji metylacji, w tym DNA, RNA, histonów, fosfolipidów błon komórkowych, mielin, neurotransmitterów, hormonów, co ma duże znaczenie w regulacji ekspresji genów czy też różnicowaniu komórek. Metylacja DNA jest jednym z czynników wpływających na ekspresję genów i jednocześnie przykładem regulacji epigenetycznej, czyli przekazywania zmian w

aktywności genów, komórkom potomnym [7]. Do oceny prawidłowości przemian folianów wykorzystywany jest stosunek S-adenozylometioniny do S-adenozylhomocysteiny (wskaźnik SAM/SAH). Obniżenie wskaźnika wskazuje na zaburzenia reakcji transmetylacji zachodzących w komórce, mających wpływ na procesy epigenetyczne [10].

Zmiana w ekspresji genów i aktywności ich produktów białkowych ma wpływ na kształtowanie się indywidualnego fenotypu, a w konsekwencji na różnice międzysobnicze. Odpowiednia podaż folianów nabiera szczególnego znaczenia dla przebiegu metylacji we wczesnym okresie ciąży, zaraz po zagnieżdżeniu zarodka w macicy [8]. Niedostateczna podaż folianów może wiązać się z zaburzeniami w procesie programowania płodowego i wywierać wpływ na wystąpienie zaburzeń w rozwoju płodu, jak też chorób w życiu dorosłym [9]. Zaburzenia metylacji DNA są powiązane z powstawaniem wad płodu [5], jak też wystąpieniem m.in. zespołu Downa czy autyzmu [6].

Znaczenie folianów w redukcji wad cewy nerwowej

Wyniki badań prowadzonych w latach 90. XX wieku wskazują na kluczową rolę folianów w redukcji ryzyka wad cewy nerwowej (WCN), której zamykanie następuje do 28. dnia po zapłodnieniu [11]. W oparciu o szereg randomizowanych i kohortowych badań, wskazujących na istotne zmniejszenie ryzyka wad cewy nerwowej w przypadku kobiet stosujących suplementację kwasu foliowego w dawce 400-800 mcg [12, 13, 14, 15] powstały zalecenia wskazujące na konieczność suplementacji diety kwasem foliowym w ilości min. 400 mcg/d w okresie przedkonceptyjnym oraz w czasie ciąży i karmienia piersią. Biorąc pod uwagę możliwość występowania szeregu zaburzeń procesów przemian folianów oraz mnogość czynników wpływających na prawidłowość tych przemian na każdym z etapów wskazuje się, iż w grupie podwyższonego ryzyka występowania wad płodu i powikłań ciąży, zaleca się łączenie suplementacji kwasu foliowego z jego aktywną formą w ilości 800 mcg/d. Należy również pamiętać, iż mimo że niedostateczne wysycenie organizmu matki folianami jest jednym z wielu czynników wad cewy nerwowej, obok cukrzycy przedciężowej, BMI >30kg/m², przyjmowanie leków przeciwpadaczkowych, czynników dziedzicznych (występowanie WCN w wywiadzie) [16, 17], jednak pozwalającym w największym stopniu (50-70%) na obniżenie ryzyka ich wystąpienia [18].

W badaniach pokazano, że suplementacja 400 µg 5-MTHF lub FA przez 12 tygodni pozwala na osiągnięcie poziomu kwasu foliowego w surowicy około 50 nmol/l. Natomiast stężenie kwasu foliowego w krwinkach czerwonych wynoszące ponad 906 nmol/l wiązało się z mniejszym ryzykiem urodzenia dziecka z wadami wrodzonymi. Efekt ten wymagał codziennego podawania dawki 0,4 mg przez 8 do 12 tygodni. Natomiast przy zastosowaniu 0,8 mg kwasu foliowego pożądane stężenie w czerwonych krwinkach uzyskano po około 4 tygodniach (średnio 4,2 ± 3,5 tygodnia). Wydaje się, że dawka 1,0 mg kwasu foliowego dziennie jest optymalna dla wszystkich kobiet w ciąży, na co składa się spożycie 0,2 mg kwasu foliowego w diecie oraz suplementacja 0,8 mg kwasu foliowego dziennie [15].

W celu zapobiegania WCN optymalny poziom kwasu foliowego w surowicy powinien zostać osiągnięty jeszcze przed poczęciem. Jest to szczególnie trudne w przypadku

nieplanowanych ciąży. Foliiany są kluczowym czynnikiem w remetylacji homocysteiny, ale podobną rolę odgrywają również cholina oraz witaminy B12, B2 i B6, co może wyjaśniać wyższą skuteczność produktów zawierających w składzie te witaminy w redukcji wad cewy nerwowej. Suplementacja w okresie przedkoncepcyjnym wydaje się być najlepszy skutecznym sposobem na osiągnięcie właściwego poziomu folianów w krótkim czasie (4–12 tygodni). Badania wykazały porównywalny wpływ 5-MTHF i FA w zwiększaniu stężenia folianów w surowicy lub w erytrocytach [19].

Znaczenie aktywnej formy folianów

Tabela 1. Podsumowanie zalet i ograniczeń wynikających ze stosowania folianów obecnych w żywności formy 5-MTHF i kwasu pteroilomonoglutaminowego (na podstawie [21])

	Ograniczenia	Zalety
Foliany żywności	Biodostępność zależna od rodzaju żywności i jej przetworzenia oraz współwystępowania innych składników, przechowywanie i gotowanie powodują straty folianów, niezbędna obecność wit. B6 i B12 dla optymalnego metabolizmu	Naturalna forma, brak górnych tolerowanych poziomów spożycia, nie maskuje niedoborów wit. B12
5-MTHF	Droższa opcja w porównaniu do FA, dla prawidłowego metabolizmu folianów niezbędne utrzymanie poziomu wit. B6 i B12, 5-MTHF obecnie jest używany do preparatów witaminowo-mineralnych dla ciężarnych	Wysoka biodostępność, forma, która naturalnie występuje w osoczu i erytrocytach oraz osoczu pępowinowym, wchodzi bezpośrednio w cykl folianów, brak górnych tolerowanych poziomów spożycia (wg referencyjnych wartości spożycia w USA), nie maskuje niedoborów wit. B12
Kwas pteroilomonoglutaminowy	Stosowanie ≥ 200 mcg - ryzyko powstawania UMFA we krwi; nie jest formą aktywną, musi zostać do niej przekształcony w ciągu przemian metabolicznych, aby wejść do cyklu folianowego; górny tolerowany poziom spożycia 1 mg/dzień, wysokie dawki mogą maskować niedobory wit. B12 i opóźnić diagnozę niedokrwistości megaloblastycznej	

FA - kwas pteroilomonoglutaminowy, UMFA - niezmetabolizowany kwas foliowy

Biodostępność folianów

Foliany jako jeden z najistotniejszych składników niezbędnych w szybko dzielących się komórkach zarodka i płodu stanowią ważny element w suplementacji zarówno w ciąży, jak i w czasie laktacji. Stąd też niesłychanie istotna jest odpowiednia podaż folianów, ich prawidłowa biodostępność, rozumiana jako wchłanianie z przewodu pokarmowego, stężenie w krwiobiegu i możliwość wykorzystania przez organizm ciężarnej i płodu.

Prawidłowo przebiegający cykl przemian metabolicznych folianów warunkuje procesy:

- Biosyntezy puryn i pirymidyn, co ma znaczenie dla syntezy DNA i RNA
- Przemiany homocysteiny (zwiększenie stężenia homocysteiny prowadzi do wzrostu ryzyka chorób układu krążenia, neurodegeneracyjnych i psychiatrycznych)
- Metylacji DNA, RNA, histonów, co przekłada się na prawidłowe różnicowanie komórek, ekspresję genów, stabilność genomu [5].

Wchłanianie folianów następuje w bliższym odcinku jelita czczego. Na tym etapie zarówno forma kwasu pteroilomonoglutaminowego jak i sól wapniowa 5-MTHF jest wchłaniana w bardzo podobnym stopniu. W enterocytach kwas pteroilomonoglutaminowy przed transportem do krwiobiegu ulega kilkustopniowej redukcji, natomiast aktywny folian jest wchłaniany bezpośrednio do enterocyty, a następnie transportowany do krwiobiegu. Kolejne istotne różnice zachodzą w późniejszych etapach przemian metabolicznych folianów warunkujących ich rzeczywiste wykorzystanie przez organizm i spełnianie swojej funkcji. Dlatego nie tylko dawka folianów ma znaczenie, ale także ich forma, gdyż będzie ona warunkować ich aktywność fizjologiczną.

Warto zwrócić uwagę na fakt, że proces zamykania cewy nerwowej trwa do 28 dnia ciąży, a prawidłowy cykl przemian metabolicznych warunkuje późniejsze etapy prawidłowego rozwoju kolejno embrionu, a później płodu w dalszych etapach rozwoju ciąży. Okazuje się, że aby zachować prawidłowość przemian folianów i wszystkich procesów z nimi związanymi lepszym wyborem będzie aktywna, naturalna forma 5-MTHF.

Wysycenie organizmu

W przypadku potrzeby szybkiego wysycenia organizmu folianami efektywniejsze jest stosowanie soli wapniowej 5-MTHF, co dotyczy zarówno kobiet w okresie okołokoncepcyjnym, w ciąży oraz w czasie laktacji [22, 23, 24, 25]. Co więcej stosowanie 5-MTHF wpływa na efektywne podniesienie stężenia folianów także w erytrocytach [23]. Powyższe obserwacje potwierdzają badania porównujące stosowanie kwasu pteroilomonoglutaminowego i aktywnej formy 5-MTHF. U kobiet stosujących formę aktywną 5-MTHF obserwowano szybsze zwiększenie stężenia folianów zarówno w surowicy, jak i w erytrocytach. Co więcej stężenie homocysteiny i metioniny związanych z przemianą folianów, jak również poziom metylacji DNA

u kobiet suplementowanych 5-MTHF były porównywalne ze stężeniem tych samych parametrów w grupie kobiet suplementowanych kwasem FA [24]. Podobne obserwacje odnotowano w przypadku kobiet w trakcie laktacji - stosowanie 5-MTHF efektywniej podniosło poziom folianów w erytrocytach oraz porównywalnie w surowicy. Obserwowano również porównywalny wzrost stężenia homocysteiny w surowicy w grupie kobiet suplementowanych FA oraz 5-MTHF [25]. Badania te pokazują, że stosowanie aktywnej formy 5-MTHF jest przynajmniej tak samo skuteczne jak stosowanie FA, jeśli chodzi o podniesienie stężenia folianów w surowicy i krwinkach czerwonych [26]. Jest to szczególnie ważne biorąc pod uwagę wzrost zapotrzebowania na foliany u ciężarnych oraz zmiany fizjologiczne w układzie pokarmowym, moczowym i krwionośnym w trakcie ciąży.

Fizjologiczna aktywność folianów

Kolejnym ważnym aspektem jest prawidłowa przemiana metaboliczna folianów. Zaburzenia w tym zakresie mogą prowadzić m.in. do hiperhomocysteinemii, hipometylacji DNA, RNA, histonów. Czynnikiem limitującym właściwą aktywność szlaku folianów, w tym szczególnie FA jest aktywność enzymu DHFR. Enzym ten wykazuje obniżoną aktywność u nosicieli wariantów zmutowanych polimorfizmu 458A>T genu DHFR [27] oraz w wyniku stosowania leków (trimetoprimu czy też metotreksatu), co może być przyczyną zwiększenia stężenia niezmetabolizowanego kwasu foliowego (UMFA) w surowicy [18]. Kolejnym czynnikiem limitującym prawidłową aktywność FA jest polimorfizm genu enzymu MTHFR, co wpływa na ograniczenie przemian 5,10-MTHF do jego aktywnej formy 5-MTHF [28]. Powyższe czynniki limitujące mogą zostać wyeliminowane w przypadku wyboru do suplementacji formy aktywnej 5-MTHF w celu zachowania prawidłowości przemian folianów [29].

Maskowanie niedoboru witaminy B12

Prawidłowy cykl przemian folianów jest uzależniony od podaży choline, witamin B6 i B12 oraz cynku. Jednym ze skutków niedoboru witaminy B12, kofaktora syntazy metioninowej, jest niedokrwistość megaloblastyczna. W takim przypadku nie dochodzi do przemiany 5-MTHF w THF, obserwuje się zaburzenia syntezy DNA i syntezy czerwonych krwinek. Zwiększenie suplementacji FA powoduje usprawnienie syntezy DNA oraz zwiększenie liczby krwinek czerwonych i poprawa morfologii, natomiast przemiana folianów i homocysteiny pozostanie zaburzona. Problem niedoboru witaminy B12 zostanie niejako zatajony, co będzie skutkowało hiperhomocysteinemią, zaburzeniami metylacji DNA, a dłuższej perspektywie nawet rozwojem chorób neurodegeneracyjnych [30].

Zjawiska tego nie obserwujemy przy podawaniu aktywnej formy folianów 5-MTHF, ponieważ bez witaminy B12 nie poprawi się obraz morfologii krwi, a stan niedoboru będzie łatwiejszy do wykrycia. Przy wyborze aktywnej formy 5-MTHF maskowanie niedoboru B12 jest bardzo mało prawdopodobne [30]. Ma to ogromne znaczenie zwłaszcza u kobiet rezygnujących

z jedzenia mięsa i produktów odzwierzęcych, co jest w Polsce coraz częściej spotykanym zjawiskiem [31].

Zespół niezmetabolizowanego kwasu foliowego (UMFA)

Suplementacja syntetycznego kwasu foliowego w nadmiernych ilościach może zwiększać ryzyko wystąpienia alergii pokarmowych [32], astmy [33] oraz autyzm [34] u dzieci. Związane jest to z nagromadzeniem niezmetabolizowanego kwasu foliowego (UMFA), który hamując enzym reduktazę dihydrofolianową (DHFR) uniemożliwia konwersję kwasu foliowego do dihydrofolianu oraz dalsze jego przemiany. W organizmie człowieka proces przekształcenia kwasu foliowego do dihydrofolianu jest mało wydajny, ze względu na małą aktywność enzymu DHFR, stąd podwyższony poziom UMFA obserwuje się nawet po spożyciu jednorazowej dawki ≥ 200 mcg kwasu foliowego [35]. Dodatkowo UMFA jest jednocześnie silnym inhibitorem kluczowego enzymu reduktazy metylenotetrahydrofolianowej (MTHFR) doprowadzając do obniżenia jego aktywności enzymatycznej, co niekorzystnie wpływa na cały szlak przemian folianów doprowadzając hiperhomocysteinemii, zmniejszenia syntezy puryn i pirymidyn oraz zaburzeń metylacji. Zjawisko to nazywane jest pseudo niedoborem aktywności MTHFR i może być obserwowane u nosicieli prawidłowych alleli polimorfizmu 677C>T.

Wyniki badań wskazują, że zmniejszenie zdolności metabolizowania kwasu foliowego do jego aktywnej formy 5-MTHF we krwi pępowinowej, jest skorelowane z ryzykiem alergii pokarmowej u dzieci [32]. Ponadto bardzo wysokie stężenie kwasu foliowego w osoczu matki po urodzeniu ($\geq 60,3$ nmol/l), powodowało 2,5-krotny wzrost ryzyka spektrum autyzmu u potomstwa [36]. Badanie w grupie 60 kobiet pomiędzy 8 a 21 tc. Pokazało, że suplementacja aktywnej formy folianów wydaje się równie skuteczna jak spożywanie kwasu foliowego, w utrzymaniu poziomu kwasu foliowego u matki, przy jednoczesnym zmniejszeniu poziomu UMFA w jej osoczu [26]. Wydaje się, że niekorzystnego wpływu UMFA na organizm dziecka można uniknąć poprzez zastąpienie suplementacji kwasu foliowego równoważną dawką aktywnej formy 5-MTHFR [37].

Znaczenie polimorfizmu genu MTHFR w szlaku przemian folianów

Aktywność kluczowego enzymu MTHFR uczestniczącego w przemianie 5,10-metylenotetrahydrofolianu do formy aktywnej 5-metylotetrahydrofolianu (5-MTHF), uwarunkowana jest występowaniem polimorfizmu genu kodującego ten enzym. Znanych jest ponad 40 polimorfizmów MTHFR, jednak największe znaczenie ma wariant MTHFR 677C>T, powodujący zamianę cytozyny na tyminę w pozycji 677 białka enzymu MTHFR. Zamiana sekwencji aminokwasów skutkuje spadkiem aktywności enzymu o 30 - 40% w przypadku genotypu heterozygotycznego 677CT, do nawet 70% w przypadku genotypu homozygotycznego 677TT. Innym polimorfizmem genu MTHFR jest zamiana adeniny na cytozynę w pozycji 1298 w eksonie 7 genu MTHFR (MTHFR 1298A>C), co powoduje obniżenie aktywności enzymatycznej białka o 20-50%.

Zmniejszona aktywność enzymu MTHFR wpływa na zaburzenia całego szlaku przemian folianów. Suplementacja aktywnej formy 5-MTHF może stanowić rozwiązanie tego problemu. Wyniki badań przeprowadzonych wśród kobiet niebędących w ciąży wskazują, że w przypadku nosicielstwa najbardziej niekorzystnego homozygotycznego wariantu 677TT MTHFR, podaż formy aktywnej folianów wpływała na wzrost stężenia folianów w osoczu w istotnie większym stopniu niż w przypadku kwasu foliowego [38].

W badaniach pokazano związek polimorfizmu genu MTHFR z zaburzonym metabolizmem homocysteiny oraz występowaniem idiopatycznej niepłodności u kobiet i nawracających utrat ciąży [39]. Może to wynikać z niskiej dostępności kwasu foliowego w ich organizmie, związanej z nosicielstwem niektórych wariantów polimorfizmu 677C>T oraz 1298A>C MTHFR [39]. Wyniki metaanalizy Cornet i wsp. [2017] wykazały, że nieprawidłowa metylacja powiązana z polimorfizmem 677C>T MTHFR, może przyczyniać się do zaburzeń w procesie spermatogenezy poprzez zwiększenie dekondensacji jądra plemników i w konsekwencji prowadzić do męskiej niepłodności [40]. W grupie par z niepłodnością, wśród których co najmniej jedno z partnerów było nosicielem zmutowanych wariantów polimorfizmu 677C>T MTHFR, wykazano dodatni wpływ suplementacji aktywną formą folianów w dawce 800 mcg/dobę na spontaniczne lub indukowane poczęcie, po bezskutecznych wcześniejszych próbach leczenia wysokimi dawkami kwasu foliowego (5 mg/dobę) [41]. W związku z tym wskazuje się na potrzebę suplementacji aktywną formą folianów 5-MTHF u par z niepłodnością, u których wykazano nosicielstwo zmutowanych wariantów polimorfizmów C677T lub A1298C genu MTHFR.

W przypadku nosicielstwa zmutowanych wariantów polimorfizmu 677C>T genu MTHFR i zmniejszonej aktywności enzymu MTHFR, przekształcanie syntetycznego kwasu foliowego w 5-MTHF jest o wiele wolniejsze. Ponadto u takich osób szybciej następuje kumulacja niezmetabolizowanego kwasu foliowego.

Podsumowanie: aktywna forma 5-MTHF a kwas pteroilomonoglutaminowy

Stosowanie aktywnej formy folianów w postaci soli wapniowej L-5MTHF w porównaniu do stosowania FA, charakteryzuje się wyższą biodostępnością i aktywnością fizjologiczną oraz większym tempem wysycenia organizmu folianami. Ponadto pozwala na ominięcie wieloetapowego procesu przemian syntetycznego FA, a tym samym na wyeliminowanie wpływu polimorfizmu genetycznego MTHFR - pułapki folianowej czy wpływu enzymu DHFR. Suplementacja formą aktywną folianów ogranicza również ryzyko związane z nagromadzeniem niezmetabolizowanego kwasu foliowego (UMFA). Podkreślić należy, że dla formy aktywnej folianów nie określono tolerowanego górnego poziomu spożycia dziennego (UL - Upper Level). Ponadto maskowanie niedoborów witaminy B12 w przypadku formy aktywnej, jak ma to miejsce w przypadku kwasu foliowego, jest mało prawdopodobne, co jest niezwykle ważne w doniesieniu do suplementacji w grupie osób eliminujących lub ograniczających z diety produkty pochodzenia zwierzęcego.

Analiza literatury wskazuje na przewagę zastosowania aktywnej formy folianów 5-MTHF w okresie okołokoncepcyjnym oraz w ciąży

- 5-MTHF - forma naturalna, stanowi ponad 98% folianów w organizmie
- Sprawne dostarczanie grupy metylowej - ważne dla ekspresji genów, metylacji histonów, białek
- Zapewnia sprawne funkcjonowanie szlaku folianowego omijając tzw „pułapkę folianową”
- Dopasowana dla kobiet nosicielek zmutowanych wariantów polimorfizmu MTHFR
- Lepsze wiązanie z receptorami i transporterami dla folianów
- lepsza biodostępność
- brak ryzyka maskowania niedoborów B12
- brak narażenia kobiet i dzieci na konsekwencje zespołu UMFA

Suplementacja choliną

Równie ważnym donorem grup metylowych jest cholina, której przemiana w betainę stanowi alternatywną drogę przenoszenia grup metylowych [43]. Szlaki przemian choliny i folianów uzupełniając się wzajemnie, zapewniają prawidłową dynamikę procesów metylacji, niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Istnieje odwrotna zależność pomiędzy ryzykiem rozwoju wad cewy nerwowej, a spożyciem choliny przez matkę oraz stężeniem choliny w osoczu, niezależnie od suplementacji lub spożycia folianów z dietą [44, 45] Cholina jest również prekursorem fosfolipidów, które są niezbędne do biosyntezy błon komórkowych, transportu lipidów oraz mielinizacji komórek nerwowych [46]. Cholina wspomaga ponadto transport przez łożysko ważnego dla rozwoju mózgu i siatkówki składnika - kwasu dokozaheksaenowego (DHA) [47].

Cholina wpływa również na rozwój mózgu płodu i tworzenie połączeń nerwowych. Badania wskazują, że spożycie choliny w czasie ciąży może mieć modulować funkcje poznawcze, behawioralne oraz pamięć u potomstwa [48,]. Optymalny poziom choliny może wpływać ochronnie na neurony we wczesnym okresie życia [49,]. Niedostateczne spożycie choliny, szczególnie na kluczowych etapach rozwoju układu nerwowego, jest jednym z czynników ryzyka zaburzeń neurorozwojowych (NDDs) takich jak zespół nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi (ADHA), spektrum autyzmu (ASD) czy dysleksji. Badanie w grupie 3-4-letnich dzieci z ASD wykazały znacząco niższe stężenie choliny w istocie szarej mózgu w stosunku do dzieci rozwijających się neurotypowo [50]. Z kolei w grupie dziewcząt z dysleksją w wieku 8-12 lat wykazano korelację między poziomem choliny a szybkością przetwarzania informacji związanych z umiejętnościami czytania [51].

Cholina wykazuje modulujący wpływ na aktywność osi podwzgórze-przysadka-nadnercze u rozwijającego się płodu. Badanie w grupie kobiet ciężarnych wykazało, iż podawanie dużych dawek choliny było związane ze zmniejszeniem stężenia kortyzolu (hormonu stresu) we krwi pępowinowej ich dzieci po urodzeniu [52]. Ponadto wyższy poziom choliny u matek, szczególnie w drugim trymestrze ciąży, wiązał się z lepszą pamięcią wzrokową u ich dzieci w wieku 7 lat [53]. Warto zaznaczyć, że cholina odgrywa również ważną rolę w zapobieganiu stłuszczeniu wątroby u ciężarnych [43]. Rekomendacje Adamsa i wsp. wskazują, iż w związku z tym, że cholina wpływa na optymalny rozwój mózgu płodu [54], a także prawdopodobnie na zmniejszenie ryzyka wad cewy nerwowej, autyzmu i zespołu Downa powinno zalecać się jej suplementację przez cały okres ciąży [55].

Znaczenie witamin z grupy B

Ważną rolę w procesie metylacji pełni także witamina B12, będąca kofaktorem syntazy metioniny. Tym samym witamina B12 czynnie uczestniczy w przekształcaniu homocysteiny do metioniny. W przypadku niedoboru witaminy B12 dochodzi do upośledzenia reakcji przemiany 5MTHF do THF i gromadzenia się w komórce aktywnej formy folianu, bez możliwości przeniesienia grup metylowych. Proces ten nazywany jest „pułapką folianową”. Ponadto wyniki badań wykazały, że zmniejszone stężenie w surowicy witaminy B12, może również zwiększać ryzyko występowania wad cewy nerwowej [56]. Wynika to z faktu, że witamina B12 jako kofaktor syntazy metioniny ma znaczenie w procesie przekazywania grup jednowęglowych do syntezy DNA oraz do procesu metylacji. Synteza DNA i reakcje metylacji stanowią ważny element prawidłowego rozwoju zarodka i płodu modulując ekspresję genów. Ona te procesy leżą u podstaw prawidłowego procesu zamykania cewy nerwowej (ryzyka powstawania samych wad) i są zależne od B12. Witamina B12 razem z witaminą B6 i folianami warunkuje prawidłowy przebieg szlaku metabolicznego folianów, istotnego dla szybko dzielących się komórek tak płodu jak i łożyska. Warto również zwrócić uwagę na fakt, że płód korzysta jedynie z matczynych zasobów witaminy B12 [57].

Prawidłowy szlak folianów i szlak metioninowy, to nie tylko synteza DNA, ale także metabolizm homocysteiny. Hiperhomocysteinemia, wykazuje szkodliwy wpływ na śródbłonek naczyń, u ciężarnych stanowiąc czynnik ryzyka poronień, niewydolności łożyska i wewnątrzmacicznego opóźnienia wzrastania płodu, jak również zwiększa ryzyko WCN. Prawidłowe stężenie homocysteiny jest zależne także od poziomu witaminy B6 - kofaktora beta-syntazy cystationiny biorącego udział w transsulfuracji homocysteiny do cysteiny [58]. Dzięki temu witamina B6 uczestniczy w jednym z dwóch mechanizmów obronnych przed hiperhomocysteinemią [64]. W badaniu przeprowadzonym w grupie ponad 3400 kobiet z różnych rejonów Polski wykazano, niedobór witaminy B6 u jednej trzeciej kobiet [59]. Z kolei wskazuje się, że niedobór witaminy B6 zwiększa aż o 71% ryzyko wystąpienia WCN [60, 61]. Witamina B6 jest również kofaktorem enzymu MTHFD1 (*metylenetetrahydrofolate dehydrogenase*) uczestniczącego w przekształceniu tetrahydrofolianu (THF) do 5,10-metylenetetrahydrofolianu, który następnie jest substratem zaangażowanym m.in. w syntezę puryn i pirymidyn, zasad azotowych kwasów nukleinowych (DNA i RNA) [62]. W położnictwie synteza DNA uwarunkowana prawidłową syntezą puryn i pirymidyn ma istotne znaczenie w szybko dzielących się komórkach we wczesnym rozwoju zarodka [63].

Zmiana stanowiska w kierunku zastąpienia kwasu foliowego formą aktywną

Pierwsze wzmianki o możliwości zastąpienia kwasu foliowego formą aktywną 5-MTHF pochodzą z początku lat 2000. W badaniu porównującym biodostępność wskazano możliwości zastąpienia kwasu foliowego formą aktywną [23]. Podobne wnioski odnotowali również niemieccy badacze Obeid i Pietrzik w 2013 wskazując, że suplementacja naturalną postacią 5-MTHF jest lepszą alternatywą niż kwas foliowy, szczególnie w krajach niestosujących programu wzbogacania żywności w foliany [19]. Do takich krajów należy również Polska. Kolejne stanowisko popierające powszechne zastosowanie aktywnej formy folianów 5-MTHF pojawiło się w 2018 roku [42]. Autorzy podkreślili, że przez dziesięciolecia kwas foliowy był synonimem zdrowia reprodukcyjnego. Okazuje się, że może on powodować ryzyko zdrowotne szczególnie

u nosicieli zmutowanych wariantów polimorfizmu genu MTHFR. Dlatego niesłuchanie istotna jest podaż naturalnych form folianów z żywnością, jak również suplementacja aktywnymi formami folianów 5-MTHF.

Stąd słuszne i korzystne dla populacji ogólnej wydaje się rozważenie zamiany kwasu foliowego na 5-MTHF w preparatach prenatalnych. W 2022 roku ukazały się wytyczne amerykańskie dotyczące suplementacji w okresie okołokoncepcyjnym. Zostało w nich jasno wskazane, że kwas foliowy jest sztuczną formą folianów oraz musi zostać przekształcony do formy bioaktywnej, co może być zaburzone u nosicieli zmutowanych alleli polimorfizmu MTHFR. Stąd należy preferować naturalne formy 5-MTHF w celu zapobiegania autyzmowi i alergiom

Rekomendacje

Dla właściwego funkcjonowanie szlaku folianów konieczne jest dostarczenie wielu składników odżywczych. Wymaga to kompleksowego wsparcia suplementacyjnego w postaci najbardziej optymalnych form związków, w skutecznych dawkach i zastosowanych przez odpowiedni okres czasu. Poniżej przedstawione zostały rekomendacje dotyczące suplementacji w celu wsparcia właściwego funkcjonowania szlaku folianów w okresie okołokoncepcyjnym, w ciąży oraz w okresie laktacji. W opracowaniu stanowiska uwzględniono najnowsze badania i stanowiska światowych towarzystw i grup eksperckich, analizowano aspekty żywieniowe i potrzeby polskiej populacji w zakresie suplementacji oraz uwzględnione zostały aspekty prawne i komunikacyjne obowiązujące w krajach UE. Zastosowanie suplementów diety dostępnych w krajach Unii Europejskiej poparte jest wskazaniem zatwierdzonymi przez Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA). Wskazanie „zmniejszenie ryzyka wad cewy nerwowej” zostało dopuszczone przez EFSA tylko w preparatach, które mają w składzie 400 µg syntetycznego kwasu foliowego. W chwili obecnej fakt ten ogranicza rekomendowanie tylko aktywnej formy folianów 5-MTHF w celu zapobiegania wad cewy nerwowej. Pozostałe wskazania zdrowotne EFSA mają zastosowanie do wszystkich dopuszczonych do stosowania form folianów czyli również formy 5-MTHF [20].

- W okresie okołokoncepcyjnym zaleca się suplementację 400 µg 5-MTHF oraz 400 µg kwasu foliowego/dzień
- U kobiet w ciąży oraz podczas laktacji zaleca się suplementację 800 µg 5-MTHF/dzień
- W suplementacji kobiet planujących ciążę, ciężarnych oraz w czasie laktacji można również stosować preparaty zawierających w swoim składzie zarówno aktywny folian, jak i syntetyczny kwas foliowy
- U kobiet przygotowujących się do ciąży zaleca się suplementację folianami co najmniej 12 tygodni przed planowaną koncepcją
- U kobiet z BMI >30 kg/m² po oznaczeniu poziomu folianów poniżej 28 nmol/l zaleca się suplementację 5 mg/dobę folianów w połączeniu z mio-inozytolem (1000 mg) maksymalnie do 12 tc.
- U kobiet, które urodziły wcześniej dziecko z wadą cewy nerwowej zaleca się suplementację 5 mg/dzień folianów

- Należy podkreślić, że rutynowe oznaczanie polimorfizmów genu MTHFR u kobiet planujących ciążę oraz ciężarnych nie jest uzasadnione klinicznie
- Nosicielstwo wariantów zmutowanych genu MTHFR nie jest wskazaniem do stosowania profilaktyki przeciwzakrzepowej
- Należy pamiętać, że w przypadku kwasu foliowego górny bezpieczny poziom dziennego spożycia (safe upper level) wynosi 1 mg/dzień

Tabela 2 Rekomendacje dotyczące suplementacji folianów, choliny oraz witamin B6 i B12

czas	OKRES PRZEDKONCEPCYJNY	CIĄŻA	LAKTACJA
cel	Wysycenie organizmu w celu obniżenia ryzyka wad cewy nerwowej płodu i innych zaburzeń	Prawidłowe podziały komórkowe, metylacja, obniżanie homocysteiny u matki i płodu	Prawidłowa metylacja, obniżanie homocysteiny u matki
foliany	400 µg 5-MTHF + 400 µg kwasu foliowego	800 µg 5-MTHF	800 µg 5-MTHF
epigenetyka	Cholina + metylokobalamina (B12) +fosforan pirydoksalu (B6)		

Cholina i B12

Tabela 3. Zalecenia dotyczące diety i suplementacji w okresie przed około koncepcyjnym

dieta	Wszystkie kobiety w wieku rozrodczym powinny uwzględniać w swojej diecie produkty bogate w foliany (sałata, szpinak, kapusta, brokuły, zboża pełnoziarniste, wątróbka, jaja, orzechy i sery)
Żywność wzbogacona	Należy zwrócić uwagę na ilość kwasu foliowego dostarczanego z żywnością wzbogaconą z uwagi na zawartość syntetycznej formy folianów
Przygotowanie kobiet do ciąży	Kobiety w wieku rozrodczym planujące ciążę powinny dodatkowo stosować suplementację folianami przez okres co najmniej 12 tygodni przed koncepcją
Przygotowanie przyszłych ojców	W okresie okołokoncepcyjnym odpowiednią poziom folianów jest ważny również u przyszłych ojców. Rekomendowana jest suplementacja 0,4 mg aktywnych folianów przez okres co najmniej 12 tygodni przed koncepcją
Okres ciąży	Kobiety powinny kontynuować suplementację folianami przez cały okres ciąży w postaci aktywnej formy folianów
Okres karmienia piersią	W okresie połogu i karmienia piersią należy stosować aktywne foliany w celu wsparcia prawidłowego funkcjonowania organizmu matki po porodzie i dostarczania folianów do mleka
Jakość suplementacji	W suplementacji należy brać pod uwagę preparaty zweryfikowane w niezależnych laboratoriach o udokumentowanej jakości i składzie opartym o najnowsze badania i wytyczne towarzystw naukowych
wsparcie epigenetyczne metylacja DNA	W suplementacji zaleca się preparaty wzbogacone o inne substancje niezbędne dla prawidłowego przebiegu szlaku folianów i metylacji: <ul style="list-style-type: none"> • witaminę B12 - w formie metylokobalaminy • witaminę B6 - w formie aktywnej fosforanu pirydoksalu • cholinę - w postaci stabilnego izomerycznie dwuwinienu

Podsumowanie

Szybki postęp wiedzy w perinatologii, genetyce i dietetyce pokazuje, że rozsądna suplementacja ma duże znaczenie dla prawidłowego przebiegu ciąży i zdrowia dziecka również w jego dorosłym życiu. U kobiet ciężarnych niesłychanie istotne jest stosowanie właściwych substancji, w biodostępnych formach, bezpiecznych i skutecznych dawkach przez odpowiedni okres czasu. Szlak przemian folianów obejmuje ważne w komórce procesy syntezy kwasów nukleinowych, utrzymania prawidłowego poziomu homocysteiny oraz zapewnienia prawidłowego poziomu metylacji w wielu reakcjach w organizmie. W celu optymalnego funkcjonowania tych procesów niezbędne są foliany w formie aktywnej. Należy zaznaczyć, że cholina oraz witaminy B6 (fosforan pirydoksalu) i witaminy B12 są związkami które aktywnie wspierają szlak przemian folianów. Suplementacja aktywną formą folianów 5-MTHF powinna być stosowana przez okres co najmniej 3 miesiące przed planowaną ciążą przez kobiety jak również partnera, a potem kontynuowana przez całą ciążę i okres karmienia piersią.

Piśmiennictwo

- [1] C. Tinelli, A. Di Pino, E. Ficulie, S. Marcelli, and M. Feligioni, 'Hyperhomocysteinemia as a Risk Factor and Potential Nutraceutical Target for Certain Pathologies', *Front Nutr*, vol. 6, p. 49, Apr. 2019, doi: 10.3389/FNUT.2019.00049.
- [2] U. Yadav, P. Kumar, and V. Rai, 'Maternal biomarkers for early prediction of the neural tube defects pregnancies', *Birth Defects Res*, vol. 113, no. 7, pp. 589–600, Apr. 2021, doi: 10.1002/BDR2.1842.
- [3] C. Dai, Y. Fei, J. Li, Y. Shi, and X. Yang, 'A Novel Review of Homocysteine and Pregnancy Complications', *Biomed Res Int*, vol. 2021, 2021, doi: 10.1155/2021/6652231.
- [4] S. Cawley, E. G. O'Malley, R. A. K. Kennedy, C. M. E. Reynolds, A. M. Molloy, and M. J. Turner, 'The relationship between maternal plasma homocysteine in early pregnancy and birth weight', *J Matern Fetal Neonatal Med*, vol. 33, no. 18, pp. 3045–3049, Sep. 2020, doi: 10.1080/14767058.2019.1567705.
- [5] T. Tamura and M. F. Picciano, 'Folate and human reproduction', *Am J Clin Nutr*, vol. 83, no. 5, pp. 993–1016, May 2006, doi: 10.1093/AJCN/83.5.993.
- [6] F. Behnia *et al.*, 'Fetal DNA methylation of autism spectrum disorders candidate genes: association with spontaneous preterm birth', *Am J Obstet Gynecol*, vol. 212, no. 4, pp. 533.e1-533.e9, Apr. 2015, doi: 10.1016/J.AJOG.2015.02.011.
- [7] A. Unnikrishnan, W. M. Freeman, J. Jackson, J. D. Wren, H. Porter, and A. Richardson, 'The role of DNA methylation in epigenetics of aging', *Pharmacol Ther*, vol. 195, p. 172, Mar. 2019, doi: 10.1016/J.PHARMTHERA.2018.11.001.
- [8] D. Monk, D. J. G. Mackay, T. Eggermann, E. R. Maher, and A. Riccio, 'Genomic imprinting disorders: lessons on how genome, epigenome and environment interact', *Nat Rev Genet*, vol. 20, no. 4, pp. 235–248, Apr. 2019, doi: 10.1038/S41576-018-0092-0.
- [9] J. L. Guéant, F. Namour, R. M. Guéant-Rodriguez, and J. L. Daval, 'Folate and fetal programming: a play in epigenomics?', *Trends Endocrinol Metab*, vol. 24, no. 6, pp. 279–289, Jun. 2013, doi: 10.1016/J.TEM.2013.01.010.
- [10] P. J. Stover, 'Polymorphisms in 1-carbon metabolism, epigenetics and folate-related pathologies', *J Nutrigenet Nutrigenomics*, vol. 4, no. 5, pp. 293–305, 2011, doi: 10.1159/000334586.
- [11] N. M. J. Van Der Put *et al.*, 'A Second Common Mutation in the Methylene-tetrahydrofolate Reductase Gene: An Additional Risk Factor for Neural-Tube Defects?', *The American Journal of Human Genetics*, vol. 62, no. 5, pp. 1044–1051, May 1998, doi: 10.1086/301825.

- [12] 'Use of Folic Acid for Prevention of Spina Bifida and Other Neural Tube Defects—1983-1991', *JAMA*, vol. 266, no. 9, pp. 1190–1191, Sep. 1991, doi: 10.1001/JAMA.1991.03470090024009.
- [13] 'Prevention of neural tube defects: Results of the Medical Research Council Vitamin Study', *The Lancet*, vol. 338, no. 8760, pp. 131–137, Jul. 1991, doi: 10.1016/0140-6736(91)90133-A.
- [14] C. Bower and F. J. Stanley, 'Dietary folate as a risk factor for neural-tube defects: evidence from a case-control study in Western Australia', *Med J Aust*, vol. 150, no. 11, pp. 613–619, 1989, doi: 10.5694/J.1326-5377.1989.TB136723.X.
- [15] A. E. Czeizel, I. Dudás, L. Paput, and F. Bánhidy, 'Prevention of neural-tube defects with periconceptional folic acid, methylfolate, or multivitamins?', *Ann Nutr Metab*, vol. 58, no. 4, pp. 263–271, Oct. 2011, doi: 10.1159/000330776.
- [16] S. E. Parker, M. M. Yazdy, S. C. Tinker, A. A. Mitchell, and M. M. Werler, 'The impact of folic acid intake on the association among diabetes mellitus, obesity, and spina bifida', *Am J Obstet Gynecol*, vol. 209, no. 3, Sep. 2013, doi: 10.1016/J.AJOG.2013.05.047.
- [17] J. Jedrzejczak, D. Bomba-Opoń, G. Jakiel, A. Kwaśniewska, and D. Mirowska-Guzel, 'Managing epilepsy in women of childbearing age - Polish Society of Epileptology and Polish Gynecological Society Guidelines', *Ginekol Pol*, vol. 88, no. 5, pp. 278–284, 2017, doi: 10.5603/GP.A2017.0053.
- [18] E. Ferrazzi, G. Tiso, and D. Di Martino, 'Folic acid versus 5-methyl tetrahydrofolate supplementation in pregnancy', *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, vol. 253, pp. 312–319, 2020, doi: 10.1016/j.ejogrb.2020.06.012.
- [19] R. Obeid, W. Holzgreve, and K. Pietrzik, 'Is 5-methyltetrahydrofolate an alternative to folic acid for the prevention of neural tube defects?', *J Perinat Med*, vol. 41, no. 5, pp. 469–483, Sep. 2013, doi: 10.1515/JPM-2012-0256.
- [20] 'Scientific Opinion on the substantiation of a health claim related to increasing maternal folate status by supplemental folate intake and reduced risk of neural tube defects pursuant to Article 14 of Regulation (EC) No 1924/2006', *EFSA Journal*, vol. 11, no. 7, Jul. 2013, doi: 10.2903/J.EFSA.2013.3328.
- [21] R. Obeid, W. Holzgreve, and K. Pietrzik, 'Is 5-methyltetrahydrofolate an alternative to folic acid for the prevention of neural tube defects?', *J Perinat Med*, vol. 41, no. 5, pp. 469–483, 2013, doi: 10.1515/jpm-2012-0256.
- [22] S. W. Bailey and J. E. Ayling, 'The pharmacokinetic advantage of 5-methyltetrahydrofolate for minimization of the risk for birth defects', *Sci Rep*, vol. 8, no. 1, Dec. 2018, doi: 10.1038/S41598-018-22191-2.
- [23] Y. Lamers, R. Prinz-Langenohl, R. Moser, and K. Pietrzik, 'Supplementation with [6S]-5-methyltetrahydrofolate or folic acid equally reduces plasma total homocysteine concentrations in healthy women', *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 79, no. 3, pp. 473–478, 2004, doi: 10.1093/ajcn/79.3.473.
- [24] A. M. Henderson *et al.*, 'l-5-Methyltetrahydrofolate Supplementation Increases Blood Folate Concentrations to a Greater Extent than Folic Acid Supplementation in Malaysian Women', *J Nutr*, vol. 148, no. 6, pp. 855–890, Jun. 2018, doi: 10.1093/JN/NXY057.
- [25] L. A. Houghton, K. L. Sherwood, R. Pawlosky, S. Ito, and D. L. O'Connor, '[6S]-5-Methyltetrahydrofolate is at least as effective as folic acid in preventing a decline in blood folate concentrations during lactation', *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 83, no. 4, pp. 842–850, 2006, doi: 10.1093/ajcn/83.4.842.
- [26] K. M. Cochrane, R. Elango, A. M. Devlin, C. Mayer, J. A. Hutcheon, and C. D. Karakochuk, 'Supplementation with (6 S)-5-methyltetrahydrofolic acid appears as effective as folic acid in maintaining maternal folate status while reducing unmetabolised folic acid in maternal plasma: a randomised trial of pregnant women in Canada', *Br J Nutr*, vol. 131, no. 1, pp. 92–102, Jan. 2024, doi: 10.1017/S0007114523001733.
- [27] J. A. Greenberg and S. J. Bell, 'Multivitamin Supplementation During Pregnancy: Emphasis on Folic Acid and l-Methylfolate', *Rev Obstet Gynecol*, vol. 4, no. 3–4, p. 126, 2011, doi: 10.3909/riog0165.
- [28] A. Seremak-Mrozikiewicz, M. Barlik, P. Borowczak, and K. Drewis, 'The frequency of 677C > T polymorphism of MTHFR gene in the Polish population | Request PDF', *Archives of Perinatal Medicine*, vol. 19, no. 1, pp. 12–18, 2013, Accessed: Jan. 24, 2024. [Online]. Available: https://www.researchgate.net/publication/288119975_The_frequency_of_677C_T_polymorphism_of_MTHFR_gene_in_the_Polish_population
- [29] B. J. Venn, T. J. Green, R. Moser, and J. I. Mann, 'Comparison of the effect of low-dose supplementation with L-5-methyltetrahydrofolate or folic acid on plasma homocysteine: a randomized placebo-controlled study', *Am J Clin Nutr*, vol. 77, no. 3, pp. 658–662, Mar. 2003, doi: 10.1093/AJCN/77.3.658.
- [30] G. Cuskelly, 'Folate and vitamin B12: friendly or enemy nutrients for the elderly', *Proceedings of the Nutrition Society*, Jan. 2007, Accessed: Jan. 23, 2024. [Online]. Available: https://www.academia.edu/62005435/Folate_and_vitamin_B12_friendly_or_enemy_nutrients_for_the_elderly
- [31] Ipsos, 'TRENDY W ZWYCZAJACH ŻYWIENIOWYCH POLAKÓW', 2022.

- [32] E. C. McGowan *et al.*, 'Association Between Folate Metabolites and the Development of Food Allergy in Children', *J Allergy Clin Immunol Pract*, vol. 8, no. 1, pp. 132–140.e5, Jan. 2020, doi: 10.1016/J.JAIP.2019.06.017.
- [33] Z. Chen, Y. Xing, X. Yu, Y. Dou, and D. Ma, 'Effect of Folic Acid Intake on Infant and Child Allergic Diseases: Systematic Review and Meta-Analysis', *Front Pediatr*, vol. 8, Jan. 2021, doi: 10.3389/FPED.2020.615406.
- [34] M. C. Desoto and R. T. Hitlan, 'Synthetic folic acid supplementation during pregnancy may increase the risk of developing autism', *J Pediatr Biochem*, vol. 2, no. 4, pp. 251–261, Jan. 2012, doi: 10.3233/JPB-120066.
- [35] E. R. Dwyer, K. B. Filion, A. J. MacFarlane, R. W. Platt, and A. Mehrbadi, 'Who should consume high-dose folic acid supplements before and during early pregnancy for the prevention of neural tube defects?', *BMJ*, vol. 377, Jun. 2022, doi: 10.1136/BMJ-2021-067728.
- [36] R. Raghavan *et al.*, 'Maternal Multivitamin Intake, Plasma Folate and Vitamin B12 Levels and Autism Spectrum Disorder Risk in Offspring', *Paediatr Perinat Epidemiol*, vol. 32, no. 1, pp. 100–111, Jan. 2018, doi: 10.1111/PPE.12414.
- [37] J. S. Tang, A. Cait, R. M. White, H. J. Arabshahi, D. O'Sullivan, and O. Gasser, 'MR1-dependence of unmetabolized folic acid side-effects', *Front Immunol*, vol. 13, Aug. 2022, doi: 10.3389/FIMMU.2022.946713.
- [38] R. Prinz-Langenohl *et al.*, '[6S]-5-methyltetrahydrofolate increases plasma folate more effectively than folic acid in women with the homozygous or wild-type 677C→T polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase', *Br J Pharmacol*, vol. 158, no. 8, p. 2014, Dec. 2009, doi: 10.1111/J.1476-5381.2009.00492.X.
- [39] L. Carboni, 'Active Folate Versus Folic Acid: The Role of 5-MTHF (Methylfolate) in Human Health', *Integrative Medicine: A Clinician's Journal*, vol. 21, no. 3, p. 36, Jul. 2022, Accessed: Jan. 25, 2024. [Online]. Available: /pmc/articles/PMC9380836/
- [40] D. Cornet *et al.*, 'Association between the MTHFR-C677T isoform and structure of sperm DNA', *J Assist Reprod Genet*, vol. 34, no. 10, pp. 1283–1288, Oct. 2017, doi: 10.1007/S10815-017-1015-2.
- [41] E. J. Servy, L. Jacquesson-Fournols, M. Cohen, and Y. J. R. Menezo, 'MTHFR isoform carriers. 5-MTHF (5-methyl tetrahydrofolate) vs folic acid: a key to pregnancy outcome: a case series', *J Assist Reprod Genet*, vol. 35, no. 8, pp. 1431–1435, 2018, doi: 10.1007/s10815-018-1225-2.
- [42] L. Tafuri, E. J. Servy, and Y. J. R. Menezo, 'The hazards of excessive folic acid intake in MTHFR gene mutation carriers: An obstetric and gynecological perspective', *Clin Obstet Gynecol Reprod Med*, vol. 4, no. 2, 2018, doi: 10.15761/COGRM.1000215.
- [43] J. K. Blusztajn, B. E. Slack, and T. J. Mellott, 'Neuroprotective Actions of Dietary Choline', *Nutrients*, vol. 9, no. 8, Aug. 2017, doi: 10.3390/NU9080815.
- [44] G. M. Shaw, S. L. Carmichael, W. Yang, S. Selvin, and D. M. Schaffer, 'Periconceptional dietary intake of choline and betaine and neural tube defects in offspring', *Am J Epidemiol*, vol. 160, no. 2, pp. 102–109, Jul. 2004, doi: 10.1093/AJE/KWH187.
- [45] G. M. Shaw *et al.*, 'Choline and risk of neural tube defects in a folate-fortified population', *Epidemiology*, vol. 20, no. 5, pp. 714–719, 2009, doi: 10.1097/EDE.0B013E3181AC9FE7.
- [46] A. M. Wiedeman, S. I. Barr, T. J. Green, Z. Xu, S. M. Innis, and D. D. Kitts, 'Dietary Choline Intake: Current State of Knowledge Across the Life Cycle', *Nutrients*, vol. 10, no. 10, Oct. 2018, doi: 10.3390/NU10101513.
- [47] S. H. Zeisel, 'Nutrition in pregnancy: the argument for including a source of choline', *Int J Womens Health*, vol. 5, no. 1, p. 193, Apr. 2013, doi: 10.2147/IJWH.S36610.
- [48] S. K. Jaiswal, K. K. Sukla, A. Chauhan, A. R. Lakhota, A. Kumar, and A. K. Rai, 'Choline metabolic pathway gene polymorphisms and risk for Down syndrome: An association study in a population with folate-homocysteine metabolic impairment', *Eur J Clin Nutr*, vol. 71, no. 1, pp. 45–50, 2017, doi: 10.1038/ejcn.2016.190.
- [49] E. Derbyshire and M. Maes, 'The Role of Choline in Neurodevelopmental Disorders—A Narrative Review Focusing on ASC, ADHD and Dyslexia', *Nutrients*, vol. 15, no. 13, pp. 1–17, 2023, doi: 10.3390/nu15132876.
- [50] S. D. Friedman, D. W. W. Shaw, A. A. Artru, G. Dawson, H. Petropoulos, and S. R. Dager, 'Gray and white matter brain chemistry in young children with autism', *Arch Gen Psychiatry*, vol. 63, no. 7, pp. 786–794, 2006, doi: 10.1001/ARCHPSYC.63.7.786.
- [51] T. Horowitz-Kraus, K. J. Brunst, and K. M. Cecil, 'Children With Dyslexia and Typical Readers: Sex-Based Choline Differences Revealed Using Proton Magnetic Resonance Spectroscopy Acquired Within Anterior Cingulate Cortex', *Front Hum Neurosci*, vol. 12, Nov. 2018, doi: 10.3389/FNHUM.2018.00466.
- [52] X. Jiang *et al.*, 'Maternal choline intake alters the epigenetic state of fetal cortisol-regulating genes in humans', *FASEB J*, vol. 26, no. 8, pp. 3563–3574, Aug. 2012, doi: 10.1096/FJ.12-207894.
- [53] C. E. Boeke, M. W. Gillman, M. D. Hughes, S. L. Rifas-Shiman, E. Villamor, and E. Oken, 'Choline intake during pregnancy and child cognition at age 7 years', *Am J Epidemiol*, vol. 177, no. 12, pp. 1338–1347, Jun. 2013, doi: 10.1093/AJE/KWS395.

- [54] J. B. Adams, J. K. Kirby, J. C. Sorensen, E. L. Pollard, and T. Audhya, 'Evidence based recommendations for an optimal prenatal supplement for women in the US: vitamins and related nutrients', *Matern Health Neonatol Perinatol*, vol. 8, no. 1, pp. 1–37, 2022, doi: 10.1186/s40748-022-00139-9.
- [55] B. J. Strupp *et al.*, 'Maternal Choline Supplementation: A Potential Prenatal Treatment for Down Syndrome and Alzheimer's Disease', *Curr Alzheimer Res*, vol. 13, no. 1, pp. 97–106, Sep. 2016, doi: 10.2174/1567205012666150921100311.
- [56] A. M. Molloy *et al.*, 'Maternal vitamin B12 status and risk of neural tube defects in a population with high neural tube defect prevalence and no folic Acid fortification', *Pediatrics*, vol. 123, no. 3, pp. 917–923, Mar. 2009, doi: 10.1542/PEDS.2008-1173.
- [57] K. Drews, 'Aktywne wspomaganie szlaku folianów - Epigenetyczny wpływ choliny i witaminy B12 na rozwój ciąży', *Ginekol Pol*, vol. 86, no. 12, pp. 940–946, 2015, doi: 10.17772/gp/60561.
- [58] K. Kamiński, 'Ginekologia po Dyplomie - Epigenetyczna regulacja aktywności genów w odpowiedzi na ...', *Ginekologia po Dyplomie*. Accessed: Jan. 29, 2024. [Online]. Available: <https://podyplomie.pl/ginekologia/38278,epigenetyczna-regulacja-aktywnosci-genow-w-odpowiedzi-na-stymulacje-zywieniowe-rola>
- [59] A. Waśkiewicz, E. Sygnowska, and G. Broda, 'Dietary intake of vitamins B6, B12 and folate in relation to homocysteine serum concentration in the adult Polish population - WOBASZ Project - PubMed', *Kardiol Pol*, vol. 68, pp. 275–282, 2010.
- [60] M. Candito *et al.*, 'Nutritional and genetic determinants of vitamin B and homocysteine metabolisms in neural tube defects: A multicenter case-control study', *Am J Med Genet A*, vol. 146, no. 9, pp. 1128–1133, 2008, doi: 10.1002/ajmg.a.32199.
- [61] K. Kamiński, M. Kucia, and E. Wietrak, 'Epigenetyka, czyli jak przez metylację możemy oszukać genetyczne przeznaczenie.', *Postępy Neonatologii*, no. 1, 2015.
- [62] L. C. Brody *et al.*, 'A polymorphism, R653Q, in the trifunctional enzyme methylenetetrahydrofolate dehydrogenase/methenyltetrahydrofolate cyclohydrolase/formyltetrahydrofolate synthetase is a maternal genetic risk factor for neural tube defects: Report of the birth defects res', *Am J Hum Genet*, vol. 71, no. 5, pp. 1207–1215, 2002, doi: 10.1086/344213.
- [63] A. Seremak-Mrozikiewicz, 'Znaczenie metabolizmu folianów w rozwoju powikłań u kobiet ciężarnych', *Ginekol Pol*, vol. 84, no. 5, pp. 377–384, 2013, doi: 10.17772/gp/1593.
- [64] K. Kamiński, 'Epigenetyczna regulacja aktywności genów w odpowiedzi na stymulację żywieniową. Rola ginekologa-położnika w programowaniu zdrowia potomstwa', *Ginekologia po Dyplomie*, vol. 6, 2022.