

Folati i folna kiselina: dosadašnje spoznaje

Folate and folic acid: current knowledge and gaps

Ivana Babić Božović*, Jadranka Vraneković

Sažetak. Folati su esencijalni vitamini potrebni za sintezu DNK-a i metabolizam homocisteina. Folna kiselina je sintetski pripravak koji se dodaje u hranu i dodacima hrane, te ima veću stabilnost i bioraspoloživost nego folati koji se prirodno nalaze u namirnicama. Uzimanje folne kiseline tijekom perikonceptijskog razdoblja ima značajnu ulogu u prevenciji defekta neuralne cijevi, no još je nejasno može li unos multivitamina s folnom kiselinom spriječiti ili smanjiti rizik za nastanak drugih prirodnih anomalija, kao i različitih kroničnih bolesti, te koje doze su istovremeno sigurne i učinkovite, osobito u prisutnosti faktora koji mogu interferirati s metabolizmom folata.

Ključne riječi: deficit folne kiseline; folati; metabolizam; prirodne anomalije

Abstract. Folate is an essential vitamin that is *required* for DNA synthesis and homocysteine metabolism. Folic acid is the synthetic form of the vitamin that is used in dietary supplements and fortified foods. It has higher *stability* and *bioavailability* than dietary folates. The periconceptual use of *folic acid* has been recommended in the prevention of neural tube defect. However, it is unclear whether folic acid supplementation reduces the risk for other congenital anomalies and some chronic diseases, and what dose is safe and most effective for prevention, particularly in the presence of factors that interfere with folate metabolism.

Key words: congenital anomalies; folate; folic acid deficiency; metabolism

Zavod za biologiju i medicinsku genetiku,
Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci,
Rijeka

Primljeno: 17. 2. 2014.

Prihvaćeno: 2. 4. 2014.

***Dopisni autor:**

Dr. sc. Ivana Babić Božović, dr. med.
Zavod za biologiju i medicinsku genetiku
Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci
Braće Branchetta 20, 51 000 Rijeka
e-mail: Ivana.Babic@medri.uniri.hr

<http://hrcak.srce.hr/medicina>

UVOD

Folat ili vitamin B9 spada u esencijalnu skupinu vitamina neophodnih za rast i razvoj organizma. Naziv folat potječe od latinske riječi *folium* što znači list, a podrazumijeva sve derivate pteroin-ske kiseline koji pokazuju vitaminsku aktivnost u ljudi, uključujući folnu kiselinu i prirodne spojeve u hrani¹. Folna kiselina je sintetski pripravak koji se dodaje u hranu i dodacima hrane, te ima veću stabilnost i bioraspoloživost nego folati koji se

Još je 1991. godine Medical Research Council donio preporuke o uzimanju folne kiseline u perikonceptijskom razdoblju kao mjere prevencije za defekt neuralne cijevi.

prirodno nalaze u namirnicama. Kemijska struktura folne kiseline podrazumijeva bicikličku molekulu pterina vezanu za p-aminobenzojevu kiselinu, koja je vezana na molekulu glutaminske kiseline. Biološki aktivni oblici folata su reducirani metaboliti folne kiseline – tetrahidrofolati (THF). Tetrahidrofolati sudjeluju u reakcijama sinteze purina i pirimidina, temeljnih gradivnih sastavnica deoksiribonukleinske kiseline (DNK), dok je 5-metiltetrahidrofolat (5-metilTHF) donator metilne skupine u reakciji remetilacije homocisteina^{1,2}.

U hrani se folati prirodno nalaze u poliglutamnim oblicima THF-a, pri čemu biljna tkiva uglavnom sadržavaju poliglutamil 5-metilTHF, kojem se pripisuje 90 % aktivnosti folata, dok u životinjskom tkivu prevladavaju 5-metilTHF i 10-formilTHF³. Namirnice kao što su zeleno lisnato povrće (špinat, salata, brokula), mahunarke, voće (naranče, limuni, jagode, kivi) i žitarice smatraju se bogatim, odnosno dobrim izvorima folata^{4,5}. Meso i mesni proizvodi uglavnom sadrže malo ovog vitamina. Iznimka je jetra koja je bogata folatima. Oblik folata, kao i vrsta, prerada, skladištenje i priprema namirnica, te interakcija s drugim nutrijentima i kemijskim spojevima u hrani značajno utječu na stabilnost i apsorpciju ovog vitamina. Primjerice, sintetski pripravak folne kiseline je 100 % bioraspoloživ ako se uzima na prazan želudac, a najmanje 85 % ako se uzima

tijekom obroka, dok je bioraspoloživost folata koji se prirodno nalazi u hrani samo 50 %^{5,6}. Proces prerade i skladištenja namirnica uglavnom dovode do razgradnje ovog vitamina. Također, dulja priprema hrane termičkom obradom uništava veći dio vitamina, pri čemu namirnice životinjskog podrijetla gube više folata od namirnica biljnog podrijetla^{7,8}. Gubitak folata tijekom blanširanja povrća veći je što je veća količina vode. Na stabilnost folata u namirnicama povoljno može utjecati prisutnost reducirajućih tvari kao što je askorbinska kiselina, dok prisutnost metalnih iona i aditiva u pravilu djeluju nepovoljno⁹.

METABOLIZAM FOLATA

U biokemijskom putu razgradnje folata sudjeluju mnogi enzimi koji imaju ulogu akceptora i donatora metilne skupine te njihovi kofaktori koji podrazumijevaju različite grupe vitamina B, uključujući B12 i B6. Molekule folata su hidrofilne te se u stanicu mogu unijeti isključivo pomoću transportnih proteina. Nakon apsorpcije u ileumu, folati se reduciraju i metiliraju u jetri u cirkulirajuću formu 5-metilTHF, te se otpuštaju u krvotok i u stanicama koriste za sintezu DNK-a i RNK-a, kao i za konverziju homocisteina (Hcy) u metionin^{1,2,10}. Metionin je esencijalna aminokiselina potrebna za sintezu mnogobrojnih proteina, a jedan od njih je i S-adenozilmetionin (SAM), važan metilirajući agens koji sudjeluje u više od stotinu poznatih reakcija metilacije. Metilacija DNK-a, histona i drugih proteina predstavlja važan epigenetički mehanizam kojim okolišni čimbenici utječu na gensku ekspresiju, neovisno o DNK slijedu¹¹. Prijenosom metilne skupine SAM se konvertira u S-adenozilhomocistein (SAH), koji se zatim hidrolizira u homocistein i adenozin (slika 1). Kada nema dovoljno metionina ili je koncentracija SAM mala, Hcy se usmjerava na put remetilacije, pri čemu ključnu ulogu imaju vitamin B12 kao kofaktor i folna kiselina kao supstrat. Stoga učinkovito korištenje folata ovisi i o dostupnosti vitamina B12, te će pri manjku vitamina B12 nastati i funkcijski manjak folata. Neuravnotežena remetilacija dovodi do nakupljanja Hcy u stanicama s posljedičnim prijenosom u cirkulaciju, što rezultira hiperhomocisteinemijom^{10,11}. Geni koji sudjeluju u metabolizmu folata također mogu imati značajnu ulogu u regu-

laciji dostupnosti folata za sintezu DNK-a i remetilačiju homocisteina. Do danas je poznato više od 20-ak mutacija na genu za N5,N10-metilentetrahidrofolat-reduktazu (engl. *5,10-methylenetetrahydrofolate reductase*; MTHFR)¹². Ovaj enzim ima ključnu ulogu u sintezi 5-metilTHF-a. Jedan od funkcionalno najvažnijih polimorfizama *MTHFR* gena je C677T koji nastaje supstitucijom baze citozina u timin u 4. egzonu uslijed čega dolazi do zamjene aminokiseline alanina u valin (A222V). Ovaj polimorfizam utječe na termolabilnost enzima i reducira njegovu aktivnost za 50 % – 60 %, što dovodi do smanjenja količine dostupnog 5-metilTHF-a, neadekvatne remetilačije Hcy i hiperhomocitemije^{12,13}. Znanstvene studije ukazuju da je *MTHFR* C677T rizični čimbenik za razvoj hiperhomocitemije i različitih poremećaja koji se povezuju s hiperhomocitemijom, uključujući bolesti krvnih žila, ateroskleroze, karcinome, shizofreniju i epilepsiju te prirodne anomalije¹⁴⁻²⁰. Smatra se, međutim, da povećanje unosa folne kiseline može učinkovito neutralizirati metabolički utjecaj *MTHFR* C677T polimorfizma¹⁴.

DEFICIT FOLATA

S obzirom na to da folati imaju osnovnu ulogu u sintezi DNK-a i metabolizmu homocisteina, količina bioraspoloživog folata kritična je za pravilnu staničnu diobu. Zalihe folata u organizmu u odnosu na potrebe relativno su malene (oko 5 mg do 20 mg), od čega je polovica u jetri, pa se deficit ovog vitamina očituje već nekoliko mjeseci nakon prestanka njegova unosa hranom²¹. Deficit se najčešće javlja zbog neadekvatnog unosa, osobito ako je povećana metabolička potreba, te zbog malapsorpcije^{1,21}. Dnevna potreba za folnom kiselinom ovisi o dobi i stanju organizma, pa u dječjoj dobi iznosi od 60 do 300 µg, a u odraslih oko 400 µg^{4,5}. Nedovoljan unos hranom čest je u starijih osoba, alkoholičara, osoba slabijeg socioekonomskog statusa, pacijenata na parenteralnoj prehrani i kroničnoj hemodijalizi kojom se gube folati²¹. Deficit ovog vitamina može se javiti i u slučajevima kada postoji pojačana metabolička potreba za folatima, primjerice u trudnoći, laktaciji, u nedonoščadi, ali i u hemolitičkoj anemiji, malignim i upalnim bolestima. Brojni lijekovi interferiraju s metabolizmom ili apsorbacijom folata, kao što su

neki citostatici, antibakterijski lijekovi, sulfasalazin i antikonvulzivi²¹. Malapsorpcija zbog abnormalnosti ileuma kao što su celijakija, tropska sprue, infiltrativne bolesti, te kirurške resekcije crijeva također mogu dovesti do značajnog manjka ovog vitamina^{21,22}.

Nedovoljan unos folata dovodi do poremećene proliferacije i morfoloških promjena svih stanica koje se ubrzano dijele, osobito hematopoetskih prekursora i gastrointestinalnih epitelnih stanica, ali i nekih stanica živčanog sustava koje se ne dijele. Dobro je poznato da deficit folata, kao i vitamina B12 uzrokuje makrocitnu, megaloblastičnu anemiju, iako umjereni deficit ovog vitamina može dugo persistirati i bez znakova anemije, uz neke metaboličke promjene kao što je porast koncentracije homocisteina^{21,23,24}. Povišena koncentracija homocisteina, kao rezultat manjka folata, smatra se faktorom rizika za razvoj ateroskleroze i duboke venske tromboze te se povezuje s povećanom incidencijom koronarne bolesti, infarkta miokarda, periferne arterijske bolesti i cerebrovaskularnog inzulta²²⁻²⁶. Također, brojna opažanja upućuju da se deficit folata i hiperhomocitemija može povezati s perifernom neuropatijom, oštećenjem kognitivnih funkcija i demencijom, a osobito s Alzheimerovom bolesti²⁷. Simptomi depresije smatraju se najčešćom psihijatrijskom manifestacijom deficita folata²⁸. Manjak ovog vitamina implicira se i u etiologiji nekih malignih bolesti, poglavito karcinoma kolorektuma, pluća, gušterače, jednjaka, želuca, vrata maternice, jajnika i dojke²². Smatra se da folati utječu na proces karcinogeneze upravo kroz svoju ulogu u sintezi DNK-a, RNK-a i donatora metilnih skupina²⁹. Usprkos velikom interesu, uloga ovog vitamina u razvoju i prevenciji spomenutih poremećaja još uvijek je nedovoljno razjašnjena. Primjerice, iako brojne studije ukazuju da adekvatan unos folne kiseline može smanjiti rizik od različitih oblika karcinoma, neki autori ukazali su na mogućnost da više doze folata mogu i povećati rizik za razvoj karcinoma, kao što su karcinom debelog crijeva i prostate³⁰⁻³². Smatra se da folna kiselina može imati dvojnu ulogu u razvoju različitih bolesti, ovisno o dozi i vremenu izlaganja, te da više doze folne kiseline treba koristiti s oprezom³²⁻³⁴.

PERIKONCEPCIJSKA PRIMJENA FOLNE KISELINE

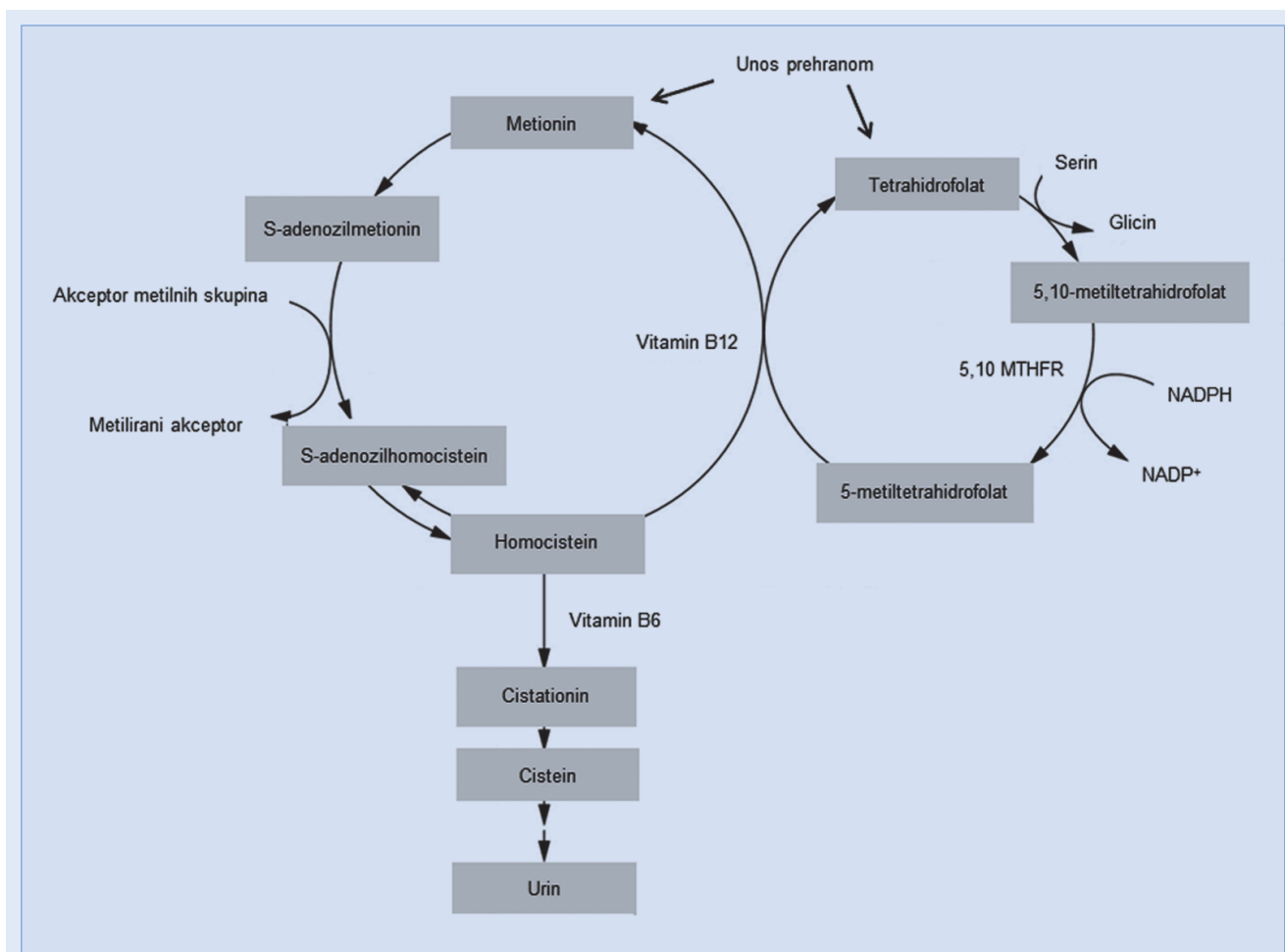
Tijekom trudnoće povećana je potreba za sintezom i metilacijom DNK-a koje su ovisne o folatima³⁵. Poznato je da prehrana majke može utjecati na fenotip ploda, putem epigenetičkih modifikacija koje utječu na ekspresiju gena. Izvrstan primjer je istraživanje provedeno na mišjim Agouti modelima³⁶. Dokazano je da promjene u unosu donatora metilnih skupina, kao što su folati, u prehrani maj-

Usprkos velikom interesu, učinak folata na različite neurološke, psihijatrijske, kardiovaskularne i maligne bolesti, kao i na druge prirođene anomalije, još je uvijek nedovoljno razjašnjen.

ke mogu utjecati na DNK metilaciju potomaka. Ove promjene u konačnici su rezultirale promjenama u boji krzna potomaka, neovisno o njihovom genotipu. Dokazano je da deficit folata tijekom trudnoće ili upotreba lijekova koji interferiraju s metabolizmom folata imaju teratogeni učinak, što se očituje većom učestalošću pobačaja, poremećaja razvoja i prirođenih anomalija^{37,38}. **Još je 1991. godine Medical Research Council donio preporuke o uzimanju folne kiseline u perikonceptcijskom razdoblju, odnosno od 4. tjedna prije začeća i tijekom prvih triju mjeseci trudnoće, kao mjeru prevencije za defekt neuralne cijevi (engl. *neural tube defect*; NTD)³⁹.** Dnevni unos od 0,4 mg dovoljan je za sniženje rizika kod žena u niskorizičnoj skupini, dok je kod žena koje su već rodile dijete s takvim poremećajem (visokorizična skupina žena) perikonceptcijski preporučena dnevna doza od 4 do 5 mg te 0,4 mg cijelo vrijeme bez obzira na trudnoću⁴⁰. Protektivan učinak folata objašnjava se upravo njegovom ulogom u regulaciji metabolizma Hyc, kao i u stimulaciji epigenetičkih metilacijskih reakcija^{35,41}. Pokazalo se, međutim, da se većina žena ne drži ovih preporuka, a adekvatna količina folata rijetko se dostiže uobičajenom prehranom³⁸. Agencija Food and Drug Administration 1998. godine propisala je obogaćivanje žitarica folnom kiselinom te se danas u velikom broju zemalja bilježi znatno smanjenje incidencije NTD-a⁴²⁻⁴⁴. Zemlje Europske unije (EU) nemaju zajednički zakon o

obaveznom obogaćivanju hrane folnom kiselinom, već se ono provodi samo u nekim zemljama, poput Velike Britanije^{42,45}. Mnoge članice EU-a još uvijek nisu spremne podržati fortifikaciju namirnica, uglavnom zbog mogućnosti da povećan unos folata može prikriti nedostatak vitamina B12, ali i povećati rizik za nastanak raka debelog crijeva⁴⁶. U Hrvatskoj još uvijek nema službenih smjernica o načinu uzimanja folne kiseline prije i za vrijeme trudnoće, kao niti obogaćivanja hrane⁴⁷. Stoga se vitaminski preparati uzimaju ili na preporuku ginekologa ili prema vlastitim afinitetima, ali najčešće tek nakon što je trudnoća potvrđena. Prema provedenim istraživanjima u zemljama članicama EU-a, žene uglavnom ne konzumiraju folate u perikonceptcijskom razdoblju³⁸.

Smatra se da prekonceptcijski unos multivitamina s folnom kiselinom također može spriječiti ili smanjiti rizik za nastanak drugih prirođenih anomalija kao što su prirođene srčane greške (engl. *congenital heart defects*; CHD) i rascjep usne i nepca (engl. *Orofacial clefts*; OFC). Sve veći broj autora sugerira protektivan učinak multivitamin-skih pripravaka koji sadržavaju folnu kiselinu na nastanak CHD-a⁴⁸⁻⁵⁴. Ove rezultate potkrepljuje i istraživanje provedeno u Kanadi koje je pokazalo smanjenu prevalenciju CHD-a nakon uvođenja mandatornog obogaćivanja žitarica folnom kiselinom⁵⁵. Isto tako, utvrđeno je da trudnice koje upotrebljavaju lijekove koji interferiraju s metabolizmom folata imaju veći rizik za nastanak CHD-a u djeteta⁵⁶. No neke studije nisu pokazale protektivan učinak folne kiseline na razvoj CHD-a⁵⁷⁻⁵⁹. Rezultati istraživanja uloge folne kiseline u prevenciji OFC-a također su kontradiktorni. Iako postoje dokazi o povezanosti perikonceptcijskog unosa folne kiseline i smanjenog rizika za nastanak OFC-a, mnogi autori ne potvrđuju ovu povezanost ili su čak utvrdili suprotan učinak^{33,60-63}. Tu prvenstveno treba spomenuti istraživanje Rozen-daala i suradnika, koje je pokazalo da perikonceptcijski unos folne kiseline u dozi od 400 µg povećava rizik za rascjep usne⁶³. Cochraneova metaanaliza iz 2010. godine provedena na 5 studija (6105 pacijentica) pokazala je da folna kiselina, sama ili u kombinaciji s vitaminima i mineralima, ima protektivan učinak na nastanak NTD-a, ali nema jasan učinak na druge urođene anomalije⁵⁹. Treba ista-



Slika 1. Metabolizam folata/homocisteina

knuti da ova metaanaliza nije uključila istraživanja koja su bila usmjerena isključivo na utjecaj folata na CHD, odnosno OFC, već je učinak ovog vitamina analiziran u sklopu studija vezanih uz NTD, pri čemu su neke od njih obuhvatile i CHD ili OFC. Također je važno spomenuti da postoje neslaganja vezano za doze folne kiseline, te se smatra da su, primjerice za protektivni učinak na nastanak CHD-a, možda potrebne veće doze od onih preporučenih za prevenciju NTD-a⁶⁴.

ZAKLJUČAK

Iako postoje jasne preporuke o perikonceptijskom uzimanju folne kiseline kao mjere prevencije za defekt neuralne cijevi, još je nejasno može li unos multivitamina s folnom kiselinom spriječiti ili smanjiti rizik za nastanak drugih prirođenih anomalija, kao i različitih kroničnih bolesti, te koje doze su istovremeno sigurne i učinkovite,

osobito u prisutnosti faktora koji mogu interferirati s metabolizmom folata. S obzirom na učinak različitih doza i oblika folata, teško je utvrditi djelovanje same folne kiseline, kao i razlikovati ga od djelovanja drugih sastojaka multivitaminskih pripravaka, odnosno njihove kombinacije. Lijekovi koji interferiraju s metabolizmom folata, mutacije gena koji sudjeluju u metabolizmu folata, pušenje, pretilost te poremećaji kao što su šećerna bolest ili malapsorpcijski sindrom utječu na apsorpciju i metabolizam ovog vitamina i mogu rezultirati neadekvatnom koncentracijom folata u krvi koja neće imati protektivni učinak. Unatoč dokazima o značaju adekvatnog unosa folata, daljnja istraživanja o njegovoj primjeni u trudnoći, kao i u slučajevima određenih kroničnih bolesti, svakako su potrebna i opravdana.

Izjava o sukobu interesa: autori izjavljuju da ne postoji sukob interesa.

LITERATURA

1. Ball GM. Folate. *In: Vitamins in foods: analysis, bioavailability, and stability*. Boca Raton: CRC Press, 2006; 232–3.
2. Bailey LB. Folic acid. *In: Zempleni J, McCormick DB, Suttie JW (eds). Handbook of Vitamins*. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2007;387.
3. Gregory JF. Determination of folacin in foods and other biological materials. *J Assoc Offic Anal Chem* 1984;67: 1015–9.
4. U.S. Department of Agriculture Agricultural Research Service [Internet]. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 25 [cited 2014 Mar 3]. Available from: <http://ndb.nal.usda.gov/>.
5. Institute of Medicine. Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes: Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline [Internet]. Washington, DC: National Academy Press [cited 2014 Mar 5]. Available from: <http://www.nap.edu/>.
6. Carmel R. Folic Acid. *In: Shils M, Shike M, Ross A, Caballero B, Cousins R (eds). Modern Nutrition in Health and Disease*. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2005;470–81.
7. Hawkes JG, Villota R. Foliates in foods: reactivity, stability during processing, and nutritional implications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 1989;28: 439–538.
8. Melse-Boonstra A, Verhoef P, Konings EJM, van Dusseldorp M, Matser A, Hollman PCH et al. Influence of processing on total, monoglutamate and polyglutamate folate contents of leeks, cauliflower, and green beans. *Journal of agricultural and food chemistry* 2002;50: 3473–8.
9. Luccock MD, Nayeemuddin FA, Habibzadeh N, Schorah CJ, Hartley R, Levene MI. Methylfolate exhibits a negative in vitro interaction with important dietary metal cations. *Food Chemistry* 1994;50:307–10.
10. Zhao R, Matherly LH, Goldman ID. Membrane transporters and folate homeostasis: intestinal absorption and transport into systemic compartments and tissues. *Expert Rev Mol Med* 2009;11:e4.
11. Tollefsbol T. Epigenetics: The new science of genetics. *In: Tollefsbol TO (eds). Handbook of epigenetics: The new molecular and medical genetics*. London-Burlington-San Diego: Elsevier, 2011;1–6.
12. OMIM – Online Mendelian Inheritance in Man [Internet]. [cited 2012 Jan 20]. Available from: <http://omim.org/entry/607093>.
13. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995;10:111–3.
14. Kang SS, Passen EL, Ruggie N, Wong PW, Sora H. Thermolabile defect of methylenetetrahydrofolate reductase in coronary artery disease. *Circulation* 1993;88: 1463–9.
15. Jongbloet PH, Verbeek AL, den Heijer M, Roeleveld N. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene polymorphisms resulting in suboptimal oocyte maturation: a discussion of folate status, neural tube defects, schizophrenia, and vasculopathy. *J Exp Clin Assist Reprod* 2008;5:5.
16. Ulrich CM, Potter JD. Folate supplementation: too much of a good thing? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006;15:189–93.
17. Wernimont SM, Clark AG, Stover PJ. Folate network genetic variation, plasma homocysteine, and global genomic methylation content: a genetic association study. *BMC Med Genet* 2011;12:150.
18. Botto LD, Yang Q. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: a HuGE review. *Am J Epidemiol* 2000;151:862–77.
19. Van Beynum IM, Kapusta L, den Heijer M, Vermeulen SH, Kouwenberg M, Daniëls O et al. Maternal MTHFR 677C>T is a risk factor for congenital heart defects: effect modification by periconceptional folate supplementation. *Eur Heart J* 2006;27:981–7.
20. Kluijtmans LA, Young IS, Boreham CA. Genetic and nutritional factors contributing to hyperhomocysteinemia in young adults. *Blood* 2003;101:2483–8.
21. Hoffbrand A. Megaloblastic Anemias [Internet]. *In: Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson J, Loscalzo J (eds). Harrison's Principles of Internal Medicine*. New York: McGraw-Hill, 2012 [cited 2014 Feb 15]. Available from: <http://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=331&Sectionid=40726843>.
22. Bailey LB, Gregory JF. Folate. *In: Present Knowledge in Nutrition*. Bowman B, Russell R (eds). Washington: International Life Sciences Institute, 2006;278–301.
23. Blom HJ, Smulders Y. Overview of homocysteine and folate metabolism. With special references to cardiovascular disease and neural tube defects. *J Inherit Metab Dis* 2011;34:75–81.
24. Rimm EB, Stampfer MJ. Folate and cardiovascular disease: one size does not fit all. *Lancet* 2011;378:544–6.
25. McLarnon A. Cancer: Folate prevents gastric cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012;9:126.
26. Wang ZM, Zhou B, Nie ZL, Gao W, Wang YS, Zhao H et al. Folate and risk of coronary heart disease: a meta-analysis of prospective studies. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2012;22:890–9.
27. Lopes da Silva S, Vellas B, Elemans S, Luchsinger J, Kamphuis P, Yaffe K et al. Plasma nutrient status of patients with Alzheimer's disease: Systematic review and meta-analysis. *Alzheimers Dement* 2013; Forthcoming.
28. Taylor MJ, Carney SM, Goodwin GM, Geddes JR. Folate for depressive disorders: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Psychopharmacol* 2004;8:251–6.
29. Kim YI. Folate: a magic bullet or a double edged sword for colorectal cancer prevention?. *Gut* 2006;55:1387–9.
30. Cole BF, Baron JA, Sandler RS, Haile RW, Ahnen DJ, Bresalier RS et al. Folic acid for the prevention of colorectal adenomas: a randomized clinical trial. *JAMA* 2007;297: 2351–9.
31. Figueiredo JC, Grau MV, Haile RW, Sandler RS, Summers RW, Bresalier RS et al. Folic acid and risk of prostate cancer: results from a randomized clinical trial. *J Natl Cancer Inst* 2009;101:432–5.
32. Wien TN, Pike E, Wisløff T, Staff A, Smeland S, Klemp M. Cancer risk with folic acid supplements: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open* 2012;2:e000653.
33. Rozendaal AM, van Essen AJ, te Meerman GJ, Bakker MK, van der Biezen JJ, Goorhuis-Brouwer SM et al. Periconceptional folic acid associated with an increased risk

- of oral clefts relative to non-folate related malformations in the Northern Netherlands: a population based case-control study. *Eur J Epidemiol* 2013;28:875–87.
34. Zhang C, Chi FL, Xie TH, Zhou YH. Effect of B-vitamin Supplementation on Stroke: a Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *PLoS ONE* 2013;8:e81577.
 35. Oommen AM, Griffin JB, Sarath G, Zempleni J. Roles for nutrients in epigenetic events. *J Nutr Biochem* 2005;16:74–7.
 36. Waterland RA, Jirtle RL. Transposable elements: targets for early nutritional effects on epigenetic gene regulation. *Mol Cell Biol* 2003;23:5293–300.
 37. Hovdenak N, Haram K. Influence of mineral and vitamin supplements on pregnancy outcome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2012;164:127–32.
 38. EUROCAT database [Internet]. Special Report: Prevention of Neural Tube Defects by Periconceptional Folic Acid Supplementation in Europe. [cited 2014 Mar 15]. Available from: <http://www.eurocat-network.eu/content/Special-Report-NTD-3rdEd-Part-I.pdf>.
 39. Medical Research Council: Vitamin Study Research Group. Prevention of neural tube defects: results of the Medical Research Council Vitamin Study. *Lancet* 1991;338:131–7.
 40. Centers for Disease Control and Prevention. CDC Grand Rounds: Additional Opportunities to Prevent Neural Tube Defects with Folic Acid Fortification. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2010;59:980–4.
 41. Sang-Woon Choi, Simonetta Friso. Epigenetics: A New Bridge between Nutrition and Health. *Adv Nutr* 2010;1:8–16.
 42. EUROCAT database [Internet]. [cited 2012 Oct 16]. Available from: <http://www.eurocat-network.eu/preventionandriskfactors/riskfactorsreview>.
 43. Chivu CM, Brezis M, Tulchinsky TH, Soares-Weiser K, Braunstein R. A systematic review of interventions to increase awareness, knowledge, and folic acid consumption before and during pregnancy. *Am J Health Prom* 2008;22:237–45.
 44. De Wals P, Tairou F, Van Allen MI. Reduction in neural tube defects after folic acid fortification in Canada. *N Engl J Med* 2007;357:135–42.
 45. EFSA – European Food Safety Authority [Internet]. [cited 2014 Mar 30]. Available from: <http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/3e.pdf>.
 46. SACN – Scientific Advisory Committee on Nutrition [Internet]. Norwich: Folic Acid and Colorectal Cancer Risk: Review of Recommendation for Mandatory Folic Acid Fortification; The Stationary Office. [cited 2014 Mar 30]. Available from: <http://www.sacn.gov.uk/>.
 47. EUROCAT database [Internet]. Special Report: Periconceptional folic acid supplementation for Croatia. [cited 2014 Mar 30]. Available from: <http://www.eurocat-network.eu/preventionandriskfactors/folicacid/folicacidspecialreports>.
 48. Czeizel AE, Dudas I. Prevention of the first occurrence of neural-tube defects by periconceptional vitamin supplementation. *N Engl J Med* 1992;327:1832–5.
 49. Czeizel AE. Reduction of urinary tract and cardiovascular defects by periconceptional multivitamin supplementation. *Am J Med Genet* 1996;62:179.
 50. Czeizel AE. Periconceptional folic acid containing multivitamin supplementation. *Eur J Obstet Gynecol and Rep Bio* 1998;78:151–61.
 51. Shaw GM, O'Malley CD, Wasserman CR, Tolarova MM, Lammer EJ. Maternal periconceptional use of multivitamins and reduced risk for conotruncal heart defects and limb deficiencies among offspring. *Am J Med Genet* 1995;59:536–45.
 52. Botto LD, Khoury MJ, Mulinare J, Erickson JD. Periconceptional multivitamin use and the occurrence of conotruncal heart defects: results from a population-based, case-control study. *Pediatrics* 1996;98:911–7.
 53. Botto LD, Mulinare J, Erickson JD. Occurrence of congenital heart defects in relation to maternal multivitamin use. *Am J Epid* 2000;151:878–84.
 54. Jenkins KJ, Correa A, Feinstein JA, Botto L, Britt AE, Daniels SR et al. Noninherited risk factors and congenital cardiovascular defects: current knowledge: a scientific statement from the American Heart Association Council on Cardiovascular Disease in the Young: endorsed by the American Academy of Pediatrics. *Circulation* 2007;115:2995–3014.
 55. Ionescu-Iltu R, Marelli AJ, Mackie AS, Pilote L. Prevalence of severe congenital heart disease after folic acid fortification of grain products. Time trend analysis in Quebec, Canada. *Brit Med J* 2009;338:b1673.
 56. Hernandez-Diaz S, Werler MM, Walker AM, Mitchell AA. Folic acid antagonists during pregnancy and the risk of birth defects. *N Engl J Med* 2000;343:1608–14.
 57. Scanlon KS, Ferencz C, Loffredo CA, Wilson PD, Correa-Villaseñor A, Khoury MJ et al. Preconceptional folate intake and malformations of the cardiac outflow tract. Baltimore-Washington Infant Study Group. *Epidemiology* 1998;9:95–8.
 58. Werler MM, Hayes C, Louik C, Shapiro S, Mitchell AA. Multivitamin supplementation and risk of birth defects. *Am J Epid* 1999;150:675–82.
 59. De-Regil LM, Fernández-Gaxiola AC, Dowswell T, Peña-Rosas JP. Effects and safety of periconceptional folate supplementation for preventing birth defects. *Cochrane Database Syst Rev* 2010;6:CD007950.
 60. George Wehby, Jeffrey C. Murray Folic Acid and Orofacial Clefts: A Review of the Evidence *Oral Dis* 2010;16:11–9.
 61. Botto LD, Olney RS, Erickson JD. Vitamin supplements and the risk for congenital anomalies other than neural tube defects. *Am J Med Genet* 2004;125:12–21.
 62. Czeizel AE, Dobo 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;70:853–61.
 63. Shaw GM, Lammer EJ, Wasserman CR, O'Malley CD, Tolarova MM. Risks of orofacial clefts in children born to women using multivitamins containing folic acid periconceptionally. *Lancet* 1995;346:393–6.
 64. Botto L. Do multivitamin supplements reduce the risk for congenital heart defects? Evidence and gaps *Images Paediatr Cardiol* 2000;2:19–27.