

KYSELINA LISTOVÁ A VRODENÉ VÝVOJOVÉ CHYBY

MUDr. Lucia Šabová, prof. MUDr. László Kovács, DrSc., MPH

2. detská klinika LF UK a DFNSP, Bratislava

Vrodené vývojové chyby (VVCh) sa vyskytujú u vysokého percenta novorodencov. Etiológia VVCh je často multifaktoriálna, no súčasné výskumy poukazujú na úlohu kyseliny listovej (jej metabolizmu v spojení s metabolizmom homocysteínu a ich genetické pozadie) v mnohých VVCh (anencefalia, myelomeningocele, meningocele, rászštepy pery a podnebia, vrodené chyby srdca, defekty končatín, defekty močového traktu a i.). Kyselina listová má v organizme komplexné pôsobenie. Dôležitou sa ukazuje možnosť primárnej prevencie niektorých VVCh perikoncepčným užívaním kyseliny listovej vďaka jej pozitívnemu vplyvu na intrauterinne sa vyvíjajúci plod.

Kľúčové slová: kyselina listová, defekty neurálnej rúry, vývojové chyby srdca, Downov syndróm, vrodené vývojové chyby, etiopatogenéza, MTHFR, prevencia.

FOLIC ACID AND CONGENITAL ANOMALIES

Congenital anomalies occur in a large portion of newborns. Aetiology of congenital anomalies is multifactorial, but present research point on the role of folic acid (folic acid pathway and homocysteine pathway and their genetic background) in many congenital anomalies (neural tube defects, cleft lip with/without palate, structural heart defects, limb defects, urinary tract anomalies and other). Folic acid has a complex function in the organism and a positive affect on the fetuses. Therefore the fact, that there is a possibility for primary prevention of specific congenital anomalies with periconceptional folic acid supplementation, appears to be important.

Key words: folic acid, neural tube defects, congenital heart defects, Down syndrome, congenital anomalies, etiopathogenesis, MTHFR, prevention.

Pediatr. prax, 2008; 1: 36–38

Vrodené vývojové chyby (VVCh) predstavujú somatické defekty prítomné u dieťaťa pri narodení. Vyskytujú sa u 2–3% novorodencov a predstavujú jednu z hlavných príčin novorodeneckej a dočrenskej morbidity a mortality. Môžu postihovať rôzne orgány, ktorých vývin štruktúry je zastavený, oneskorený alebo nasmerovaný nesprávnym smerom v skorom embryonálnom štádiu vývoja. Príčinou vrodených vývojových chýb môže byť genetická chyba, expozícia fétu infekciám, toxickým látkam či rádiácii atď. Súčasný výskum upozorňuje na možnú dôležitú úlohu kyseliny listovej, resp. jej nedostatku v etiológii niektorých častých vrodených vývojových chýb.

Kyselina listová

Kyselina listová (kyselina pteroyl-monoglutámová) patrí medzi vitamíny rozpustné vo vode. Od nej sa odvodzuje skupina ďalších látok spoločne nazývaných **foláty** (polyglutamáty), ktorých absorpcia a biologická dostupnosť je nižšia v porovnaní s monoglutamátmi. Medzi významné prírodné zdroje folátov patrí pečeň, surová, hlavne listová zelenina, orechy, obilné klíčky, celozrnné výrobky, niektoré druhy ovocia (pomaranče, mango, avokádo, banány, čerešne, jahody, maliny, egreše), mliečne výrobky (mäkké syry, plesňové syry), strukoviny, kvasnice. Kyselina listová sa enterohepatálnym obehom dostáva do veľkého krvného obehu, kde zväčša cirkuluje vo väzbe na albumín. Samotná kyselina listová nie je biologicky aktívna v organizme človeka, jej biologicky účinnou formou je jej metabolit tetrahydrofolát, ktorý sa transportuje do buniek.

Kyselina listová má v organizme komplexné pôsobenie – jej deriváty sú potrebné pre syntézu DNA, delenie buniek, rast tkanív a metyláciu DNA. Metylácia umožňuje správnu expresiu génov a udržanie ich normálnej štruktúry, čo je dôležité pre vyvíjajúce sa embryo (7). Je známa účasť kyseliny listovej aj na remetylácii homocysteínu na metionín, pri poruche tejto reakcie dochádza k zvýšeniu plazmatickej hladiny homocysteínu.

Všeobecne je známe, že zásoby kyseliny listovej v organizme sú limitované a už jej 2–3 mesiace trvajúcim nedostatku dochádza k rozvoju megaloblastickej anémie. Novšie údaje svedčia o širšom zdravotnom význame kyseliny listovej v organizme a poukazujú na jej úlohu vo vzniku viacerých získaných chorôb (napr. ochorenia ciev, resp. nádorové ochorenia) a vrodených vývojových chýb (8, 12, 17, 18). Je vysoko pravdepodobné, že komplexné interakcie polymorfizmov génov, ktoré sa zúčastňujú metabolizmu kyseliny listovej s rôznymi dietetickými vplyvmi môžu zvyšovať riziko narodenia dieťaťa s niektorými častými vrodenými vývojovými chybami, ku ktorým patria defekty neurálnej rúry, rászštepy pery a podnebia, vrodené chyby srdca a tiež Downov syndróm. Genotyp matky a jej nedostatočný príjem kyseliny listovej môžu ovplyvniť riziko vzniku vrodených vývojových chýb, kým genotyp plodu môže modifikovať pravdepodobnosť prežitia postihnutého plodu do pôrodu (väčšina, až 80–95% gravidít s postihnutým plodom sa končí spontánnym potratom už počas včasných fáz tehotenstva) (4, 6, 13, 14, 21).

Defekty neurálnej rúry

Defekty neurálnej rúry (NTD, *neural tube defects*) sa manifestujú ako anencefalia, myelomeningocele, resp. meningocele. Spolu predstavujú druhú najčastejšie sa vyskytujúce VVCh u ľudí (20), ich priemerná incidencia je 0,5–1,0 prípadov na 1 000 pôrodov (7, 15). Etiológia NTD je multifaktoriálna, zahrňujúc genetické aj environmentálne príčiny. Genetické formy sú zriedkavé a môžu byť podmienené bodovými mutáciami (napr. cerebrokostomandibulárny syndróm), resp. chromozómovými anomáliami (napr. pri trizómii 13 a 18).

Environmentálne faktory sa zúčastňujú na vzniku väčšiny NTD. Jedným z dôležitých dokázaných faktorov je deficit kyseliny listovej u matky v období tesne pred a po počatí embrya. Mnohé štúdie ukázali, že mimoriadne citlivým je perikoncepčné obdobie do 28 dňa po počatí. Nedostatočný prísun, resp. spomalený metabolizmus kyseliny listovej v tomto období výrazne zvyšuje riziko vzniku NTD (6, 7, 11, 26).

Kľúčovým faktorom metabolizmu kyseliny listovej je enzým MTHFR (5,10-metylén-tetrahydrofolát reduktáza), ktorý katalyzuje premenu 5,10-metylén-tetrahydrofolátu na jeho aktívnu cirkulujúcu formu, ktorým je 5-metyl-tetrahydrofolát. Jeden pomerne častý variant génu MTHFR (polymorfizmus C677T) je spojený so syntézou enzýmu so zníženou biologickou aktivitou a zvýšenou termolabilitou. Znížená aktivita enzýmu sa pritom prejavuje deficitom 5-metyl-tetrahydrofolátu, znížením metylácie homocyste-

inu a vznikom hyperhomocysteinémie. Opakovane sa potvrdilo, že prítomnosť tohto polymorfizmu je spojená so zvýšeným rizikom vzniku NTD (6, 7). Je pozoruhodné, že v afroamerickej populácii s nízkou frekvenciou polymorfizmu MTHFR je aj incidencia NTD nižšia (25). Kombinácia polymorfizmu MTHFR s nízkou hladinou folátov má za následok väčšie riziko vzniku NTD, než by mal každý parameter osamote (9). Zvýšené hladiny homocysteinémie boli pozorované v plazme resp. amniovej tekutine tehotných žien, ktorých plody mali NTD (26, 27).

Vrodené chyby srdca

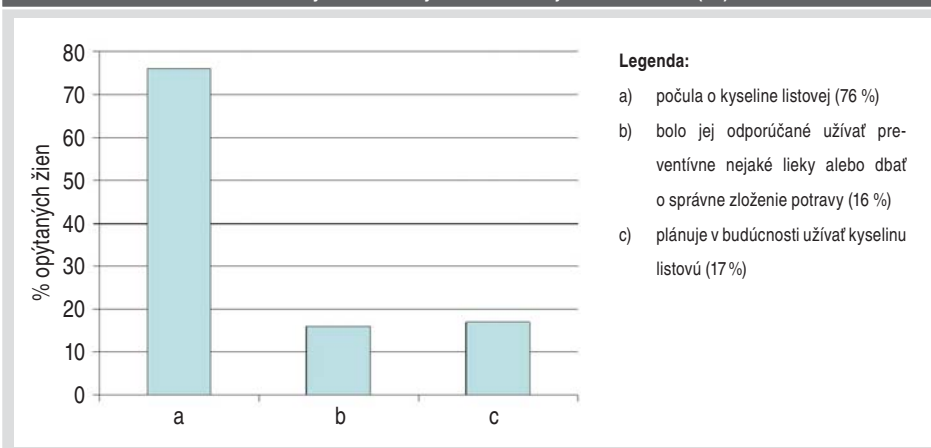
Vrodené chyby srdca (CHD, *congenital heart defects*) sú najčastejšou vrodenou malformáciou. Vyskytujú sa s incidenciou približne 1% živonarodených detí, pričom častejšie sú vrodené chyby s ľavo-pravým skratom. Etiológia CHD je multifaktoriálna. Bodové mutácie zvyčajne spôsobujú CHD v rámci definovaných syndrémov a CHD (najmä defekty komorového septa a koarktácia aorty) sú súčasťou aj viacerých chromozómových podmienených syndrémov, napr. syndrómu mikrodélií 22q11, ktorý je asociovaný s DiGeorgovým syndrómom, resp. s velokardiofaciálnym syndrómom. Defekty výtokovej časti srdca (konotrunkálne defekty – Falotova tetralógia, truncus arteriosus, dvojitá výtoková pravá komora, defekt komorového septa atď.) a defekty oblúku aorty predstavujú špecifické srdcové anomálie.

V ostatnom období sa objavili správy o možnom dôležitom postavení **folátov** spomedzi environmentálnych príčin vzniku CHD. Presná úloha kyseliny listovej počas zložitej morfogénzy srdca zostáva nejasná. Je však vysoko pravdepodobná asociácia polymorfizmov génov folátového metabolizmu s vývinom niektorých typov CHD. Novšie štúdie z USA a Nemecka svedčia o potenciálnej úlohe týchto polymorfizmov najmä vo vzniku CHD s anomáliami výtokovej (konotrunkálnej) časti srdca (16, 28). Vzhľadom na skutočnosť, že existujú aj práce, ktoré túto asociáciu zatiaľ nedokázali potvrdiť (19, 22), je možné, že vo vzniku CHD môžu hrať úlohu aj iné faktory spojené s metabolizmom kyseliny listovej. Tento názor podporujú výsledky intervenčných štúdií, ktoré perikoncepčnou suplementáciou kyseliny listovej dosiahli signifikantnú, 25 až 40-percentnú redukciu výskytu niektorých typov CHD (5, 11, 25).

Downov syndróm

Riziko narodenia dieťaťa s DS (Downov syndróm) vekom matky stúpa. Napriek tomu sa väčšina detí s DS rodí matkám, ktoré sú mladšie než 35 rokov (23). Tento fakt naznačuje existenciu genetických a/alebo environmentálnych faktorov zodpovedných za tvorbu dizomických gamét u mladých žien. Vo

Obrázok 1. Informovanosť tehotných žien o kyseline listovej na Slovensku (15).



väčšine prípadov DS vzniká nadbytočný chromozóm chybnou primárnou segregáciou chromozómov počas prvého meiotického delenia ešte pred koncepciou. Sú preto zvlášť pozoruhodné správy, podľa ktorých poruchy metabolizmu kyseliny listovej môžu vyúsťovať do chromozómovej nondisjunkcie s následnou aneuploidiou u ľudí (1). Skutočne, zvýšená homocysteinémia bola označená ako potenciálny rizikový faktor pre narodenie dieťaťa s DS mladým matkám (4).

Odpoveď na otázku o možnom protektívnom pôsobení kyseliny listovej si vyžaduje ešte čas na dôkladný výskum a na odhalenie presných patomechanizmov vzniku Downovho syndrómu. V každom prípade je pozoruhodné, že štúdie uskutočnené v severnej a južnej Amerike skoro bez výnimky zistili asociáciu polymorfizmov génu MTHFR (hlavne polymorfizmu C677T) so zvýšeným rizikom narodenia dieťaťa s DS. Na rozdiel od nich, štúdie v populáciách z oblasti Stredozemného mora resp. z Japonska túto asociáciu nemohli nepotvrdiť. Ďalšie práce sú potrebné na zistenie, či tento geografický a populačný rozdiel nie je spôsobený skôr environmentálnymi, dietetickými vplyvmi, teda tým, že strava bohatšia na čerstvú zeleninu a ovocie môže poskytnúť dostatok folátov, čím sa kompenzuje polymorfizmom spôsobená znížená aktivita enzýmu MTHFR (4, 24). Existujú dôkazy, že niektoré matky detí s DS majú podobne abnormalný metabolizmus kyseliny listovej a metabolizmus homocysteínu ako matky detí s NTD (6). Niekedy sa dokonca vyskytujú DS a NTD v jednej rodine, čo naznačuje, že aspoň časť prípadov DS a NTD by mohla mať spoločnú etiológiu (10). V severoamerickej a írskkej populácii sa pozorovalo aj zvýšené riziko DS u žien, ktoré boli nosičkami kombinácií polymorfizmov C677T génu MTHFR a polymorfizmu A66G génu pre reduktázu metionínsyntetázy (13). Populačný výskyt predisponujúcich polymorfizmov v rôznych etnikách môže byť odlišný, v slovanských populáciách sú podobné práce doposiaľ zriedkavé (18, 21).

Existuje prevencia?

Pozitívny vplyv kyseliny listovej na intrauterinú sa vyvíjajúci plod sa dostaví len v prípade, ak ju matka začne užívať už pred počatím! Autori veľkých intervenčných štúdií dokázali, že perikoncepčným podávaním kyseliny listovej ženám už mesiac pred počatím a počas prvých troch mesiacov tehotenstva sa znížil výskyt defektov neurálnej rúry (až o 72%), štruktúrnych chýb srdca (o 25 – 50%) a tiež iných vrodených chýb (napr. rázštep pery a podnebia, defekty končatín, vrodené defekty močového traktu a i.) (11).

Keďže vyše 50% gravidít na Slovensku nie je plánovaných, nemusí byť zdravotný stav žien v období počatia optimálny. Nie je dostatočná informovanosť zdravotníckych odborníkov, širokej verejnosti a hlavne mladých žien o dôležitosti príjmu kyseliny listovej **pred plánovaným otehotnením** a o jej potenciálnom protektívnom účinku na vyvíjajúci sa organizmus (2, 3). Potvrdzujú to výsledky dotazníkovej akcie, podľa ktorej síce viac ako 76% tehotných žien počulo o kyseline listovej ako takej, ale iba 16% z nich uviedlo, že im bolo odporúčané užívať nejaké lieky alebo dbať o správne zloženie potravy, no aké lieky alebo potraviny nikto neuviedol (obrázok 1) (15).

Zvýšenú dodávku kyseliny listovej v perikoncepčnom období je možné docieľiť rôznymi cestami: 1) zvýšením príjmu potravín bohatých na kyselinu listovú (pečeň, sója, šošovica, špenát, fazuľa, brokolica, šalát a iné prírodné zdroje, ktorých biologická využiteľnosť je však nižšia, 2) suplementáciou v tabletkovej forme (tablety kyseliny listovej alebo multivitaminové prípravky), 3) fortifikovanými potravinami.

Odborné spoločnosti, ako napr. *Národné centrum pre vrodené defekty a vývojové chyby v Spojených štátoch amerických, Americká spoločnosť pôrodníkov a gynekológov, Kanadská spoločnosť klinických genetikov, Spoločnosť pôrodníkov a gynekológov Kanady* odporúčajú **všetkým ženám vo fertilnom veku pridávať kyselinu listovú v dávke**

400 µg/deň k vyváženej, na kyselinu listovú bohatej strave bez ohľadu na to, či plánujú tehotenstvo alebo nie. V prípade plánovaného tehotenstva k strave bohatej na kyselinu listovú sa odporúča začať prijímať suplementy s obsahom kyseliny listovej aspoň 3 mesiace pred otehotnením v dávke 400 µg/deň a pokračovať počas celého tehotenstva a obdobia po pôrode (4 – 6 týždňov a počas laktácie).

Pre **prevenciu rekurencie vrodených vývojových chýb**, ktoré môžu súvisieť s kyselinou listovou (anencefalia, myelomeningocele, meningocele, rászštep pery a podnebia, štrukturálne chyby srdca, defekty končatín, defekty močového traktu, hydrocefalus) sa odporúčajú 10-násobne vyššie dávky, t. j. **4 – 5 mg/deň** tri mesiace pred otehotnením až do konca prvého trimestra, po tomto období je už dostatočná dávka 400 µg/deň až do 10 – 12 týždňa

po pôrode. Rovnako vysoké dávky sa odporúčajú aj ženám s epilepsiou, s diabetes mellitus závislým na inzulíne resp. s obezitou s hodnotou BMI > 35 kg/m², ktoré majú vyššie riziko narodenia dieťaťa s VVCh (29).

Už v rokoch 1997 – 1998 pristúpili USA, Kanada, neskôr Čile ku celoplošnej **fortifikácii múky a múčnych výrobkov** kyselinou listovou. Ich rozhodnutie zrejme ovplyvnilo aj správy o tom, že kyselina listová má okrem vplyvu na výskyt VVCh znížením hyperhomocysteinémie vplyv aj na ochorenia kardiovaskulárneho systému, nádorové ochorenia alebo zlepšenie kognitívnych schopností v staršom veku. Aj Veľká Británia postupne prechádza na zvýšenie príjmu kyseliny listovej systémom dobrovoľnej fortifikácie múky. Väčšina ostatných európskych štátov zaujíma v súčasnosti zdržanlivejšiu postoj ku zahá-

jeniu povinnej fortifikácie múky, tieto krajiny skôr odporúčajú suplementovať kyselinou listovou len potravu určenú pre cieľové skupiny obyvateľstva, ktorými sú napr. ženy vo fertílom veku. Niektoré cereálne výrobky sú aj u nás fortifikované kyselinou listovou. Malo by sa však uvažovať o fortifikácii múky a múčnych výrobkov v záujme zvýšenia príjmu tohto vitamínu u všetkých vrstiev obyvateľstva bez ohľadu na socioekonomický status jednotlivcov. Náklady na takúto suplementáciu nepochybne vyvážia prínos z potenciálnej redukcie výskytu niektorých častých a závažných vrodených vývojových chýb v populácii.

MUDr. Lucia Šabová

2. detská klinika LF UK a DFNSP

Limbová 1, 833 40 Bratislava

e-mail: sabova@dfnsp.sk

Literatúra

1. Beetstra S, Thomas S, Salisbury S, Turner J, Fenech M. Folic acid deficiency increases chromosomal instability, chromosome 21 aneuploidy and sensitivity to radiation-induced micronuclei. *Mutation Research*. 578, 2005: 317–326.
2. Behunová J, Podracká L. Prevencia rászštepov nervovej trubice alebo, ako možno znížiť výskyt vrodených anomálií CNS? *Detský lekár*. 2, 2006: 19–22.
3. Behunová J, Podracká L. Rászštep nervovej trubice – súčasné pohľady na etiopatogenézu a možnosti prevencie kyselinou listovou. *Čes.-slov. Pediatr.*, 68, 1, 2008: 38–45.
4. Bosco P, Gue'ant-Rodriguez RM, Anello G, Barone C, Namour F, Caraci F, Romano A, Romano C, Gue'ant JL: Methionine Synthase (MTR) 2756 (AG) Polymorphism, Double Heterozygosity Methionine Synthase 2756 AG/Methionine Synthase Reductase (MTRR) 66 AG, and Elevated Homocysteinemia Are Three Risk Factors for Having a Child With Down Syndrome. *American Journal of Medical Genetics*. 121, 2003: 219–224.
5. Botto LD, Mulinare J, Erickson JD. Do Multivitamin or Folic Acid Supplements Reduce the Risk for Congenital Heart Defects? Evidence and Gaps. *American Journal of Medical Genetics*. 121, 2003: 95–101.
6. Botto LD, Yang Q. 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies a HuGE review. *Am J Epidemiol*. 151, 2000: 862–877.
7. Boyles AL, Billups AV, Deak KL, Siegel DG, Mehltrittler L, Slifer SH, Bassuk AG, Kessler JA, Reed MC, Nijhout HF, George TM, Enterline DS, Gilbert JR, Speer MC. NTD Collaborative Group Neural tube defects and folate pathway genes: family-based association tests of gene-gene and gene-environment interactions. *Environ Health Perspect*. 114, 2006: 1547–1552.
8. Chou Yc, Lee MS, Wu MH, Shih HL, Yang T, Yu CP, Yu JC, Sun CA. Plasma homocysteine as a metabolic risk factor for breast cancer: findings from a case-control study in Taiwan. *Breast Cancer Res Treat*. 101(2), 2007: 199–205.
9. Christensen B, Arbour L, Tran P, Leclerc D, Sabbaghian N, Platt R, Gilfix BM, Rosenblatt DS, Gravel RA, Forbes P, Rozen R. Genetic polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase and methionine synthase, folate levels in red blood cells, and risk of neural tube defects. *Am J Med Genet*. 84, 1999: 151–157.
10. Coppede F, Marini G, Bargagna S, Stuppia L, Minichilli F, Fontana I, Colognato R, Astrea G, Palka G, Migliore L. Folate Gene Polymorphisms and the Risk of Down Syndrome Pregnancies in Young Italian Women. *American Journal of Medical Genetics Part A*. 140, 2006: 1083–1091.
11. Czeizel AE: Periconceptional folic acid containing multivitamin supplementation European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biol. 3, 78; 1998: 151–161.
12. Graham IM, Daly LE, Refsum HM, Robinson K, Brattström LE, Ueland PM, Palma-Reis RJ, Bowers GHJ, Sheahan RG, Israelsson B, Uiterwaal CS, Meleady R, McMaster D, Verhoef P, Witteman J, Rubba P, Bellet H, Wautrecht JC, de Valk HW, Sales Lu'is AC, Parrot-Roulaud FM, Tan KS, Higgins I, Garcon D, Medrano MJ, Candito M, Evans AE, Andria G. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease—the European concerted action project. *J Am Med Assoc*. 277; 1997: 1775–1781.
13. Hobbs CA, Sherman SL, Yi P, Hopkins SE, Torfs CE, Hine RJ, Pogribna M, Rozen R, James SJ: Polymorphisms in Genes Involved in Folate Metabolism as Maternal Risk Factors for Down Syndrome. *Am J Hum Genet*. 67, 2000: 623–630.
14. Hobbs CA, James SJ, Jermigan S, Melnyk S, Lu Y, Malik S, Cleves MA: Congenital heart defects, maternal homocysteine, smoking, and the 677 C>T polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: evaluating gene-environment interactions. *Am J Obstet Gynecol*. 194, 2006: 218–224.
15. Horn F. Spina bifida. Kaudálne defekty neurálnej rúry. *VMV, Prešov*, 1. vydanie, 2005: 1–96.
16. Junker R, Koffhoff S, Vielhaber H, Halimeh S, Kosch A, Koch HG, Kassenbohmer R, Heineking B, Nowak-Gottl U. Infant methylenetetrahydrofolate reductase 677TT genotype is a risk factor for congenital heart disease. *Cardiovascular Research*, 51, 2001: 251–254.
17. Lietava J, Blažiček P, Rašlová K. Súčasné postavenie homocysteinu. Návrh stanoviska Slovenskej asociácie aterosklerózy ku skríningu, meraniu a liečbe hyperhomocysteinémie (Homocysteinový konsenzus 2). *Via pract.*, 2007, roč. 4 (S1): 11–12.
18. Matalon R, Rady S, Szucs K, Matalon P, Hynek J, Šebesta P, Maoušková J, Vondráčková N, Pejznochová H, Dubská L, Píndisová H, Dvořáková J, Loučka M, Martiníková V, Šlančová M. Polymorphism of MTHFR and MTRR in Czech Patients with Cardiovascular Diseases and Stroke. *Česko-slovenská pediatrie*. 58, 7; 2003: 418–420.
19. McBride KL, Fernbach S, Menesses A, Molinari L, Quay E, Pignatelli R, Towbin JA, Belmont JW. A Family-Based Association Study of Congenital Left-Sided Heart Malformations and 5,10-Methylenetetrahydrofolate Reductase. *Birth Defects Research (Part A)* 70, 2004: 825–830.
20. Pekarovič E.: Diagnosis of urinary tract disorders in congenital spinal lesions. *Int.Urol.Nephrol*. 6, 1974: 183–189.
21. Rašlová K, Bederová A, Gašparovič J, Blažiček P, Smolková B. Effect of Diet and 677C-T 5,10-Methylenetetrahydrofolate Reductase Genotypes on Plasma Homocysteine concentrations in Slovak Adolescent Population. *Physiol Res*, 49; 2000: 651–658.
22. Shaw GM, Iovannisci DM, Yang W, Finnell RH, Carmichael SL, Cheng S, Lammer EJ. Risks of Human Conotruncal Heart Defects Associated With 32 Single Nucleotide Polymorphisms of Selected Cardiovascular Disease-Related Genes. *American Journal of Medical Genetics*, 138A, 2005: 21–26.
23. Šustrová M, Mišovicová N, Černaj J, Buchler P, Červeňová O, Ďuračková Z, Algayerová M. Diagnóza: Downov syndróm. Bratislava: Perperfekt, prvé vydanie 2004: 12–40.
24. Takamura N, Kondoh T, Ohgi S, Arisawa K, Mine M, Yamashita S, Aoyagi K. Abnormal folic acid-homocysteine metabolism as maternal risk factors for Down syndrome in Japan. *Eur J Nutr*. 43, 2004: 285–287.
25. Van Beynum IM, Kapusta L, den Heijer M, Vermeulen SH, Kouwenberg M, Daniels O, Blom HJ. Maternal MTHFR 677C>T is a risk factor for congenital heart defects: effect modification by periconceptional folate supplementation. *Eur Heart J*. 27, 2006: 981–987.
26. Van der Put NM, van Straaten HW, Trijbels FJ, Blom HJ. Folate, homocysteine and neural tube defects: an overview. *Exp Biol Med*. 226, 2001: 243–70.
27. Westrom KD, Johanning GL, Owen J. Amnionic fluid homocysteine levels, 5,10-methyltetrahydrofolate reductase genotypes, and neural tube closure sites. *Am J Med Genet*. 90, 2000: 6–11.
28. Westrom KD, Johanning GL, Johnson KE, DuBard M. Association of the C677T methylenetetrahydrofolate reductase mutation and elevated homocysteine levels with congenital cardiac malformations. *Am J Obstet Gynecol*. 184; 2001: 806–812.
29. Wilson RD, Johnson JA, Wyatt P, Allen V, Gagnon A, Langlois S, Blight C, Audibert F, Désilets V, Brock JA, Koren G, Goh I, Nguyen P, Kapur B. Pre-conceptional Vitamin/Folic Acid Supplementation 2007: The Use of Folic Acid in Combination With a Multivitamin Supplement for the Prevention of Neural Tube Defects and Other Congenital Anomalies. *J Obstet Gynaecol Can*, 29 (12); 2007: 1003–1013.