

*Teresa Laskowska-Klita, Magdalena Chelchowska, Jadwiga Ambroszkiewicz,
Joanna Gajewska*

KWAS FOLIOWY – ROLA W METABOLIZMIE KOMÓRKI

Zakład Badań Przesiewowych Instytutu Matki i Dziecka w Warszawie
Kierownik: dr n. biol. *M. Oltarzewski*

Hasła kluczowe: kwas foliowy, szlaki metaboliczne, wchłanianie, biodostępność, suplementacja.

Key words: folic acid, metabolism, absorption, bioavailability, supplementation.

Kwas foliowy (folacyna, witamina M) należy do grupy witamin rozpuszczalnych w wodzie. Chemicznie jest to kwas pteroiloglutaminowy zbudowany z układu 6-metylopterydyny, kwasu 4-aminobenzoowego (PABA) i kwasu L(+)glutaminowego.

Naturalnym źródłem kwasu foliowego są produkty spożywcze pochodzenia zwierzęcego i roślinnego (1). Szczególnie bogatym źródłem tej witaminy jest wątroba (220–365 µg/100 g), otręby pszenne (ok. 260 µg/100 g) oraz drożdże (ponad 250 µg/100 g). Do naturalnych folianów zalicza się około 40 związków. Różnią się one między sobą stopniem utlenienia, grupą jednowęglową (metylowa, metylenowa, metynowa, formylowa, formiminowa), jak również liczbą dołączonych reszt kwasu glutaminowego. Zwykle są to formy poliglutaminowe zawierające do 11 reszt glutaminianu. Dla potrzeb farmaceutycznych kwas foliowy syntetyzowany jest w formie utlenionej z 4-hydroksy-2,5,6-triaminopirymidyny, aldehydu 1,2-dibromopropionowego i z kwasu *p*-aminobenzoiloglutaminowego. Jest to związek o barwie żółtej, wrażliwy na światło, wysoką temperaturę oraz czynniki redukujące i utleniacze.

Aktywną formą kwasu foliowego jest jego postać uwodorniona – kwas tetrahydrofoliowy. Dwuetapową reakcję redukcji katalizuje specyficzna reduktaza współpracująca z NADPH⁺ oraz witaminą C. W etapie pierwszym powstaje kwas 7,8-dihydrofoliowy, redukowany następnie do 5,6,7,8-tetrahydrofolianu. Tetrahydrofolian jest przenośnikiem fragmentów jednowęglowych. Przyłączając grupy hydroksymetylowe z seryny tworzy 5,10-metylenotetrahydrofolian. Po przyłączeniu grup formylowych z histydyny i/lub tryptofanu przekształca się w 10-formylotetrahydrofolian. Aktywne metabolicznie są 5,10-metylenotetrahydrofolian oraz 10-formylotetrahydrofolian po przekształceniu w bogaty energetycznie 5,10-metylotetrahydrofolian (1, 2).

Udział folianów w wielu procesach metabolicznych zapewnia prawidłowe funkcjonowanie wszystkich komórek organizmu. Kwas tetrahydrofoliowy jest koenzymem biorącym udział w przenoszeniu fragmentów jednowęglowych:

- w cyklu metioninowym, w którym jednostki jednowęglowe jako grupy metylowe są niezbędne dla remetylacji homocysteiny do metioniny;
- jako S-adenozylometionina, która jest dawcą reszt metylowych w syntezie fosfolipidów, metylacji białek i DNA;

- syntezy zasad purynowych i pirymidynowych;
- syntezy nukleotydów;
- syntezy białek;
- w przemianie histydyny w kwas glutaminowy.

FOLIANY POKARMOWE I ICH BIODOSTĘPNOŚĆ

Foliany pokarmowe są bardziej labilne niż syntetyczny kwas foliowy. Podczas gotowania warzyw i owoców utrata witamin sięga 50–80%. Ponadto w porównaniu do syntetycznego kwasu foliowego wchłaniane są wolniej. Ze względu na fakt, że 170 µg folianów jest równoważne ze 100 µg kwasu foliowego ich ekwiwalent dietetyczny stanowi zawartość w pożywieniu pomnożoną przez 1,7 (3).

Biodostępność folianów pokarmowych zależy od wielu czynników. Wśród nich podkreśla się rodzaj pokarmu, w którym foliany powiązane są kowalencyjnie z makrocząsteczkami pożywienia. Utrudnia to ich dyfuzję ze struktur komórek szczególnie w niektórych produktach roślinnych. Istotną rolę odgrywa również ich stabilność w procesie trawienia. Askorbinian bądź białka wiążące foliany stabilizują tę witaminę, lecz inne składniki żywności mogą zwiększać jej utratę (4, 5, 6, 7). Z badań *Melse-Booustra* i współpr. (19) wynika, że ok. 2/3 folianów w diecie mieszanej występuje (produkty roślinne) w formie pochodnych poliglutaminowych. Warunkiem wchłonięcia w układzie pokarmowym jest ich hydroliza do form monoglutaminowych. Szybkość dekonjugacji zależy od aktywności koniugaz jelitowych rozkładających formy poliglutaminowe, a szczególnie od karboksypeptydazy folilopoliglutaminowej. Redukcja biodostępności folianów może być związana z wykazanym ostatnio polimorfizmem genu tego enzymu i wynikających z tego różnych właściwości katalitycznych. Wiadomo, że karboksypeptydaza jest wrażliwa na zmiany pH. Wartości optymalne dla jej aktywności wahają się w granicach 6,5–7,0. Z badań prowadzonych w latach 90. wynika, że głównymi inhibitorami koniugaz są niskocząsteczkowe kwasy organiczne, takie jak: cytrynian, malonian i askorbinian występujące w dużych ilościach w sokach owocowych np. pomarańczowym bądź pomidorowym. Niskie wchłanianie folianów obserwuje się w chorobach przewodu pokarmowego takich, jak stany zapalne czy niewydolność trzustki. Stosowane w tych schorzeniach leki przeciwzapalne i zobojętniające, oraz hamujące wydzielanie soku żołądkowego mogą, poprzez podnoszenie jelitowego pH, ograniczać dekonjugację pochodnych poliglutaminowych, a tym samym upośledzać wchłanianie kwasu foliowego. Otwartym pozostaje pytanie, czy w nieobecności inhibitorów dekonjugacji biodostępność poliglutaminowych folianów jest mniejsza niż form monoglutaminowych (w tym syntetycznego kwasu foliowego).

METODY BADANIA BIODOSTĘPNOŚCI FOLIANÓW

W badaniach biodostępności folianów porównywano wchłanianie ich monoglutaminowych i wieloglutaminowych pochodnych syntetycznych bądź też występujących w pożywieniu. Stosowano dawki niskie (<200 µg/dobę), jak i wysokie (ponad

200 µg/dobę) podawane jednorazowo lub wielokrotnie. Badania prowadzono również przy użyciu znaczników izotopowych. Monitorowano zmiany stężeń folianów w surowicy i w moczu w różnym czasie po podaniu. W badaniach długoterminowych przy dawkach wielokrotnych oznaczano ponadto poziom folianów w erytrocytach oraz mierzono stężenia homocysteiny. Dotychczasowe wyniki badań są rozbieżne. Porównując kinetyczną i metaboliczną równowagę pochodnych monoglutaminowych u szczurów nie wykazano różnic w stopniu i intensywności absorpcji. Wyniki te potwierdzono w eksperymentach z zastosowaniem izotopów. W przeciwieństwie do tych obserwacji w badaniach prowadzonych u ludzi obserwowano różnice we wchłanianiu podawanych doustnie pojedynczych dawek różnych postaci monoglutaminowych. Podobne wyniki odnotowano stosując stabilne znaczniki izotopowe (5, 7). Przyczyny tych rozbieżności można upatrywać w różnej stabilności folianów w przewodzie pokarmowym, która zależy między innymi od składników diety. Wielu autorów wskazuje, że wchłanianie form poliglutaminowych pozostaje ograniczone, jednakże glutaminacja *per se* nie musi być czynnikiem limitującym wchłanianie. W krótkoterminowych badaniach nad dostępnością folianów w szpinaku zawierającym 60% form poliglutaminowych i w szpinaku, w którym były one dekonjugowane do monoglutaminianów obserwowano różne ich wchłanianie. W badaniach długoterminowych z wykorzystaniem drożdży (100% form poliglutaminowych) i szpinaku (50% pochodnych poliglutaminowych) biodostępność folianów była taka sama. Wyniki te są zgodne z obserwacjami uzyskanymi przy zastosowaniu znaczników izotopowych. Powyższe rezultaty wskazują, że hydroliza pochodnych poliglutaminianowych może nie być czynnikiem decydującym o ograniczonym wchłanianiu folianów (6).

Biodostępność syntetycznych pochodnych wieloglutaminowych różniła się znacznie i wahała od 50 do 100% (średnio 75%). Przyczyna różnic jest złożona ale dotychczas nie jest dokładnie poznana. Biowchłanianie tych pochodnych z diety mieszanej nie przekracza 50% wchłaniania z diety referencyjnej wzbogaconej kwasem foliowym.

Foliany dostarczane z dietą są wchłaniane w bliższych odcinkach jelita cienkiego. Proces ten zachodzi przy udziale przenośnika, którym jest bądź białko błonowe o dużym powinowactwie do form zredukowanych, bądź też błonowy receptor wykazujący powinowactwo do folianów zarówno utlenionych, jak i zredukowanych. Rola receptora jest szczególnie istotna w narządach, w których zapotrzebowanie na kwas foliowy jest wysokie (nerki, łożysko, piersi). Receptor ten, na drodze endocytozy dostarcza foliany do wnętrza komórek, w których ulegają one przekształceniu w pochodne wieloglutaminowe. W badaniach *in vitro* wykazano, że receptor ten pełną aktywność wykazuje tylko w obecności sfingolipidów i cholesterolu. Obecność mykotoksyn (w zanieczyszczonych ziarnach zbóż) lub lovastatyny (terapia przeciwcholesterolowa) hamuje wchłanianie folianów. Wchłanianie folianów jest funkcją linearną w stosunku do stężeń tych związków w przyjętej dawce. Maksymalne stężenie w surowicy występuje w 60–90 min. po podaniu doustnym i spada w okresie 3,5–6 godz. (6, 8, 9, 10, 11, 12).

Stężenie osoczowe folianów zależy od wielkości przyjętej dawki i jest zgodne z funkcją wysycenia *Michaelisa-Mentena*. W komórkach nabłonka jelitowego wchłonięte cząsteczki ulegają redukcji przy udziale reduktazy dihydrofolianu. Powinowa-

ctwo tego enzymu do kwasu foliowego jest mniejsze niż do dihydrofolianu, co sprzyja pojawianiu się we krwi niezmetabolizowanego kwasu foliowego w ilościach zależnych od spożytej dawki. Jednorazowe spożycie folianów w ilości powyżej 200 μg przekracza zdolność metaboliczną nabłonka i prowadzi do pojawiania się w krążeniu folianów w formie niezredukowanej. Czynnikiem ograniczającym może być również zmienność osobnicza aktywności reduktazy wynikająca z polimorfizmu genetycznego tego enzymu ograniczającego (w obrębie intronu-1) jego ekspresję (12, 13). Czterohydrofolian przechodzi następnie w 5-metylotetrahydrofolian. Metylowana pochodna pojawia się w osoczu krwi już 30 min. po spożyciu kwasu foliowego. Wątroba, w której metabolizm fragmentów jednowęglowych jest bardzo nasilony, jest narządem charakteryzującym się wysokimi stężeniami folianów. Retencja folianów w hepatocytach zależy od aktywności syntetazy poliglutaminianowofolianowej katalizującej ich przekształcenie w pochodne poli- γ -glutaminowe, a następnie ich przyłączenie do specyficznych białek wiążących. Są to zwykle, oprócz albumin, enzymy związane z przenoszeniem reszt jednowęglowych. Foliiany wydzielane są z żółcią, głównie w postaci 5-metylotetrahydrofolianu. Związek ten w wątrobie trudno ulega poliglutaminacji i łatwiej niż inne pochodne wydalany jest z żółcią. Z żółci jest resorbowany poprzez krążenie jelitowo-wątrobowe w ilości średnio 60 mmoli na dobę. W krążeniu jelitowo-wątrobowym znajduje się również 5-metylotetrahydrofolian pochodzenia pokarmowego w ilościach nie przekraczających 10% spożytej dawki. Związek ten po reabsorpcji jest transportowany przez osocze do tkanek. Komórki układu krwiotwórczego oraz szpiku kostnego wykazują większe powinowactwo do zredukowanych postaci metylowych, natomiast kwas pteroiglutaminowy wydajniej pobierają tkanki nabłonkowe nerek, łożyska, spłotu naczyniowego.

Dotychczas prowadzone obserwacje zdają się potwierdzać pogląd, że foliiany w organizmie występują w przedziałach różniących się szybkością przemian. Pula tych związków charakteryzująca się wolnym metabolizmem przeważa ilościowo pulę, w której związki te ulegają szybkim przemianom. Ilości folianów w obu przedziałach metabolicznych zależą od wielkości spożycia i wydalania. Przy niskim i średnim spożyciu wydalanie sięga 0,5–1% całkowitych zasobów organizmu. Z wyliczeń wynika, że dla zachowania stanu równowagi ilość wchłoniętych folianów powinna zawierać się w granicach 300–400 μg /dzień. Uwzględniając ich biodostępność z żywności określaną na 75%, minimalne spożycie określić można w zakresie 259–353 μg /dzień (5, 6).

Z badań farmakokinetyki z zastosowaniem izotopów wynika, że szybkość metabolizmu folianów zależy od podaży i wzrasta znacznie (5–10-krotnie) przy wysokim ich spożyciu. Na metabolizm tych związków wpływa również wysycenie organizmu. Przy wysokim wysyceniu kinetyka jest dwufazowa. *Clifford* i wspólr. (11) po jednorazowym, doustnym podaniu znakowanego ^{14}C kwasu foliowego prowadzili u tego samego pacjenta badania długoterminowe (202 dni). Autorzy ci obserwowali gwałtowne (faza szybka) pojawienie się ^{14}C w osoczu podczas pierwszych 8 godz. po podaniu i obecność izotopu podczas następnych 69 dni (faza wolna). W erytrocytach izotop pojawiał się w 4 dni po podaniu. Opóźnienie to związane może być z uwalnianiem dojrzałych komórek. Wydalanie ^{14}C z moczem przebiega również dwuetapowo: szybko ($t_{1/2} = 4,6$ godz.) i wolno ($t_{1/2} = 63$ dni). W kale, prawdopodobnie w wyniku wydalania nie wchłoniętych pozostałości izotop pojawiał się w 3 dni

po podaniu. Podobne wyniki dotyczące tempa metabolizmu folianów obserwowali inni autorzy (6, 11).

Utrata folianów ustrojowych zachodzi również poprzez ich katabolizm. W warunkach tlenowych czterohydrofolian i dihydrofolian mogą ulegać niespecyficznym procesom utleniania. Są też rozkładane do pteryn i p-aminobenzoilglutaminianu, który w 80% jest wydalany jako pochodne acetamidowe. Pochodne te powstają przy udziale specyficznych transferaz arylamidowych (6).

W nerkach foliany są wchłaniane zwrótnie z przesączu kłębkowego z udziałem specyficznych przenośników. Wydalane są również z moczem w ilościach nie przekraczających 40 µg dziennie.

Foliany znajdują się również w kale. Są to nie tylko pozostałości z diety, lecz również pochodzą z żółci, ze złuszczonej komórki nabłonka jelitowego i są produktem syntezy bakterii symbiotycznych.

Badania na zwierzętach wykazały, że wydalanie znakowanych izotopami folianów z kałem jest główną i równoważną z wydalaniem z moczem, drogą usuwania tej witaminy. Również u ludzi wydalanie folianów z kałem jest ważnym elementem w zachowaniu prawidłowego bilansu tych związków w organizmie.

Ocenia się, że ilości folianów wydalone z organizmu z moczem, z kałem oraz ich utrata w wyniku przemian katabolicznych sięgają połowy dziennego spożycia. Pochodzą one głównie z puli tkankowej (6).

Wiele związków chemicznych może zaburzać wchłanianie, wykorzystanie i magazynowanie kwasu foliowego w komórkach organizmu (6, 14, 15, 16, 17).

LEKI HAMUJĄCE WCHŁANIANIE FOLIANÓW

Salazosulfamirylna – lek przeciwpalny stosowany między innymi w przewlekłym, wrzodziejącym zapaleniu jelit, w zapaleniu okrężnicy i w chorobie Crohna hamuje koniugazy jelitowe. Podobnie działają inne, niesterydowe leki przeciwpalne. Również alkohol osłabia wchłanianie tej witaminy i jej wychwyt tkankowy poprzez modyfikację aktywności dekonjugacyjnej enzymów. Natomiast metotrexat i inne analogi kwasu foliowego stosowane w chorobie nowotworowej (podobnie jak sulfamidami, pirymetamina, trimetoprin) hamuje absorpcję podanych doustnie folianów współzawodnicząc nie tylko z ich transportem do komórek lecz również modyfikując metabolizm poprzez hamowanie reduktazy dihydrofolianowej. Palenie tytoniu również zmniejsza zawartość kwasu foliowego w surowicy. Wchłanianie folianów upośledza też fenytoina stosowana jako lek przeciwpadaczkowy. Jej antyfolianowy mechanizm działania pozostaje niewyjaśniony. Kwas foliowy modyfikuje działanie fenobarbitalu i prymidonu zwiększając szybkość (niepełną przy niedoborach folianu) ich metabolizmu.

NIEDOBÓR KWASU FOLIOWEGO A ZDROWIE

Bilans ustrojowy zależy od wysycenia puli tkankowej, krążenia jelitowo-wątrobowego, procesów katabolicznych oraz od wydzielania z moczem i kałem.

Niedobory kwasu foliowego mogą być skutkiem:

- niedostatecznej podaży w diecie pokarmowej,
- zaburzeń wchłaniania jelitowego,
- stosowania doustnych środków antykoncepcyjnych,
- zaburzeń metabolizmu kwasu foliowego (w wyniku terapii antagonistami kwasu foliowego, bądź lekami przeciwdrgawkowymi),
- zwiększonego zapotrzebowania (ciąża, zakażenia, niedokrwistość hemolityczna).

Z badań doświadczalnych, klinicznych i epidemiologicznych wynika, że niedobór folianów w pożywieniu może zwiększać ryzyko występowania niektórych zagrożeń zdrowotnych (1, 2).

Z badań Instytutu Żywności i Żywienia wynika, że standardowa dieta w Polsce dostarcza zaledwie 70–74% rekomendowanej dawki dziennego spożycia folianów (4). Niedobory folianów uważa się za czynnik ryzyka wystąpienia szeregu chorób, co sprawia że niedobory tej witaminy w populacji polskiej stanowią problem z zakresu zdrowia publicznego.

U kobiet w wieku reprodukcyjnym utrzymanie bilansu folianów jest istotne szczególnie w aspekcie profilaktyki wrodzonych wad cewy nerwowej (3, 4, 18, 19, 20, 21, 22). Częstość występowania tych wad w Polsce ocenia się na 1,15–2 na 1000 noworodków. W związku z powyższym, kobiety w wieku rozrodczym powinny uzupełniać dietę kwasem foliowym w dawce 0,4 mg/dziennie, szczególnie w okresie miesiąca przed zajściem w ciążę i kontynuować suplementację w pierwszym trymestrze. Dawki dziesięciokrotnie większe powinny przyjmować matki, które uprzednio urodziły dzieci dotknięte tą wadą (23). Niedobór folianów przyczyniać się może do powstania aberracji chromosomalnych i dysregulacji genów co sprzyja procesom onkogenezy (15, 24, 25, 26, 27, 28). Rola folianów w profilaktyce chorób nowotworowych dotyczy szczególnie tkanki nabłonkowej szyjki macicy, żołądka i okrężnicy. Rozwój stanów przedrakowych gruczolaka odbytnicy i okrężnicy zależy w sposób bardzo istotny od ustrojowego bilansu folianów, a obniżoną o 30% zapadalność na te nowotwory wykazano przy dawce 400 µg/dzień.

Występująca przy niedoborach folianów hiperhomocysteinemia stanowi niezależny czynnik ryzyka miażdżycy i choroby niedokrwiennej serca i naczyń (wzrost homocysteiny o 5 µmol/dm³ zwiększa ryzyko tych chorób o 60–80%). Występuje ona u ok. 30% pacjentów z chorobą niedokrwinną serca i naczyń obwodowych, a nawet u 40% osób dotkniętych chorobą naczyń mózgowych. Obniżenie stężeń homocysteiny we krwi uzyskuje się u pacjentów w wyniku terapii kwasem foliowym (1, 29, 30, 31). Skuteczność profilaktycznej suplementacji jest jednak ograniczona niską świadomością społeczną wynikającą z niedociągnięć programów edukacyjnych. W USA i Kanadzie wprowadzenie obowiązkowej fortyfikacji żywności kwasem foliowym ograniczyło znacząco ryzyko niedoborów tej witaminy. Ze względu na nieznanne jeszcze skutki zdrowotne dla różnych grup ludności (osoby starsze, niektóre choroby przewlekłe – interferencja z lekami) suplementacja żywności budzi kontrowersje i w innych krajach, w tym w Unii Europejskiej, nie została dotychczas wprowadzona.

T. Laskowska-Klita, M. Chełchowska, J. Ambroszkiewicz, J. Gajewska

FOLIC ACID – ITS ROLE IN THE CELLULAR METABOLISM

PIŚMIENNICTWO

1. *Fairfield K.M., Fletcher R.H.*: Vitamins for chronic disease prevention in adults. *Sc. Rev. Clin. Appl., JAMA*, 2002; 287: 3116-3126. – 2. *McNulty H., Pentieva K.*: Folate bioavailability. *Proc. Nutr. Soc.*, 2004; 63: 529-536. – 3. *Holmes V.A., Wallace J.M., Alexander H.D., Gilmore W.S.* i wspólr.: Homocysteine is lower in the third trimester of pregnancy in women with enhanced folate status from continued folic acid supplementation. *Clin. Chem.*, 2005; 51(3): 629-634. – 4. *Ziemlański Ś., Wartanowicz M., Przepiórka M.*: Rola kwasu foliowego w organizmie człowieka. Zapobieganie wrodzonym wadom cewy nerwowej. Praca zbiorowa pod redakcją *Z.J. Brzezińskiego i E. Helwich*, wyd. II wzn., Instytut Matki i Dziecka Warszawa 2000; 93-109. – 5. *Gregory III J.F., Quinlivan E.P., Davis S.R.*: Integrating the issues of folate bioavailability, intake and era of fortification. *Trends in Food Sc. Techn.*, 2005; 16: 229-240. – 6. *Gregory III J.F., Quinlivan E.P.*: *In vivo kinetics folate metabolism*. *An. Rev. Nutr.*, 2002; 22: 199-220. – 7. *Melse-Boonstra A., West C.E., Katan M.B., Kok F.J., Verhoef P.*: Bioavailability of heptaglutamyl relative to monoglutamyl folic acid in healthy adults. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2004; 79: 424-429. – 8. *Jackson R.C.*: Toxicity prediction from metabolic pathway modelling. *Toxicol.*, 1995; 102: 197-205. – 9. *Klee G.C.*: Cobalamin and folate evaluation: measurement of methylmalonic acid and homocysteine vs vitamin B₁₂ and folate. *Clin. Chem.*, 2000; 46(8B): 1277-1283. – 10. *Wolf G.*: Inhibition of cellular uptake of folate by blocking synthesis of the membrane folate receptor. *Nut. Rev.*, 1998; 56(3): 86-90.

11. *Clifford A., Arjamand A., Duecker S.* i wspólr.: The dynamics of folic acid metabolism in an adult a small tracer dose of ¹⁴C-folic acid, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1998; 445: 239-251. – 12. *Bailey L.B., Gregory, III J.F.*: Polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase and other enzymes: metabolic significance, risks and impact on folate requirement. *J. Nutr.*, 1999; 129(5): 919-922. – 13. *Mierzejewska E.*: Mutacje reduktazy metylenetetrahydrofolianowej jako genetyczny czynnik ryzyka wystąpienia WCN. *Med. Wieku Rozw.*, 1999; 4: 521-527. – 14. *Brzeziński Z.J.*: Profilaktyka wad rozwojowych za pomocą kwasu foliowego. Zapobieganie wrodzonym wadom cewy nerwowej. Praca zbiorowa pod redakcją *Z. J. Brzezińskiego i E. Helwich* wyd. II wzn., Instytut Matki i Dziecka Warszawa 2000; 129-153. – 15. *Peters G.J., Hooijberg J.H., Kaspers G.J.L., Jansen G.*: Folates and antifolates in the treatment of cancer; role of folic acid supplementation on efficacy of folate and non-folate drugs. *Trends in Food Sc. Techn.*, 2005; 16: 289-297. – 16. *Broxson E.H., Stork L.C., Allen R.H.* i wspólr.: Changes in plasma methionine and total homocysteine levels in patients receiving methotrexate infusions. *Can. Res.*, 1989; 49: 5879-5883. – 17. *Quinn C.T., Griener J.C., Bottiglieri T., Hyland K.* i wspólr.: Elevation of homocysteine and excitatory amino acid neurotransmitters in the CSF of children who receive methotrexate for the treatment of cancer. *J. Clin. Oncol.*, 1997; 15: 2800-2806. – 18. *Ray J.G., Laskin C.A.*: Folic acid and homocyst(e)ine metabolic defects and the risk of placental abruption, pre-eclampsia and spontaneous pregnancy loss: a systematic review. *Placenta*, 1999; 20: 519-529. – 19. *Infante-Rivard C., Rivard G.E., Gauthier R., Theoret Y.*: Unexpected relationship between plasma homocysteine and intrauterine growth restriction. *Clin. Chem.*, 2003; 49(9): 1476-1482. – 20. *Steegers-Theunissen R.P., Van Iersel C.A.* i wspólr.: Hyperhomocysteinemia, pregnancy complications, and the timing of investigation. *Am. Coll. Obstet. Gyn.*, 2004; 104(2): 336-343.

21. *Ueland P.M., Vollset S.E.*: Homocysteine and folate in pregnancy. *Clin. Chem.*, 2004; 50(8): 1293-1295. – 22. *Acuna J., Yoon P., Ericson D.*: The prevention of neural tube defects with folic acid. Centre for Disease Control and Prevention, 2003; (<http://www.cdc.gov>). – 23. *Brzeziński Z.J.*: Program pierwotnej profilaktyki wad cewy nerwowej w Polsce. *Med. Wieku Rozw.*, 1999; III(4): 503-508. – 24. *Paz M.F., Avila S., Fraga M.F.* i wspólr.: Germ-line variants in methyl-group metabolism genes and susceptibility to DNA methylation in normal tissues and human primary tumors. *Can. Res.*, 2002; 662: 4519-4524. – 25. *Niyikiza C., Hanauske A.R., Rusthoven J.J.* i wspólr.: Pemetrexed safety and dosing strategy. *Sem. In. Onc.*, 2002; 29(18): 24-29. – 26. *Poirson-Bichat F., Bras Goncalves R.A., Miccoli L.* i wspólr.: Methionine depletion enhances the antitumoral efficacy of cytotoxic agents in drug-resistant human tumor xenografts. *Clin. Can. Res.*, 2000; 6: 643-653. – 27. *Wu L.L., Wu J.T.*: Hyperhomocysteinemia in a risk factor for cancer and a new potential tumor marker. *Clin. Chim. Acta.*, 2002; 322: 21-28. – 28. *Kalemba*

M., Wojciech U., Milewicz T., Kapiszewska M.: The increased amount of vitamin B₁₂ in serum is needed to minimize the uracil misincorporation into DNA during folate supplementation. *Trends in Food Sc. Techn.*, 2005; 16: 317-320.- 29. *Refsum H., Christenesen B., Djurhuus R., Ueland P.M.*: Interaction between methotrexate, “Rescue” agents and cell proliferation as modulators of homocysteine export from cells in culture. *J. Pharm. Ex. Ther.* 1991; 258(2): 559-566. – 30. *Moat S.J., Ashfield-Watt P.A., Powers H.J.* i współpr.: Effect of riboflavin status on the homocysteine-lowering effect of folate in relation to the MTHFR (C677T) genotype. *Clin. Chem.*, 2003; 49(2): 295-302.

31. *Jacobsen D.W.*: Homocysteine and vitamins in cardiovascular disease. *Clin. Chem.*, 1998; 44(8B): 1833-1843.

Adres: 01-211 Warszawa, ul. Kasprzaka 17a.