

SAFETY AND FORTIFICATION WITH FOLIC ACID IN NEONATAL PERIOD

Tatiana Žikavská, Ingrid Brucknerová

ABSTRACT

Folic acid, the essential vitamin, and its active forms are substantial parts of many biochemical processes in the human body. In the period of rapid growth of organism or in cell growth, body's demands for folate increase. Its impact in neonatal period varies even in premature newborns. Fortification with folic acid and its substitution in the treatment of anaemia are the important parts in the comprehensive care in premature newborns. To determine optimal dose in this group of patients is difficult. The determination of red blood cell folate concentration levels is the most accurate indicator of long-term folate level status in the body. Unmetabolised folic acid in circulation of newborns could have potentially adverse effects. Toxicity of folic acid is not a concern as folate is water-soluble and easily excreted by kidneys when in excess but on the other side growing organism of preterm newborn and disruption of metabolic balance could be potential risks.

Keywords: folic acid; newborn; fortification; milk formula; anaemia

ÚVOD

Kyselina listová predstavuje nevyhnutnú súčasť dôležitých biochemických procesov v ľudskom organizme. Najdôležitejšie z nich sú biosyntéza nukleotidov, metionínu a metylačné reakcie v bunke (Beaudin a Stover, 2007).

Počas tehotenstva zabezpečuje prísun kyseliny listovej a železa optimálny vývoj dieťaťa (Peña-Rosas et al., 2012). Jej denný príjem minimálne 0,4 mg pred a počas tehotenstva jednoznačne znížilo výskyt defektov neurálnej rúry, rázštepov podnebia (Canfield et al., 2005; Wilcox et al., 2007), ale aj iných izolovaných štrukturálnych defektov (Bánhidý et al., 2011). Podľa Daryho už pri perorálnej dávke 0,1 mg kyseliny listovej signifikantne klesá výskyt defektov neurálnej rúry (Dary, 2009). V dôsledku prenatálnej suplementácie kyselinou listovou, ktorá je súčasťou adekvátnej výživy, sa znižuje riziko nízkej pôrodnej hmotnosti u novorodenca (Takimoto et al., 2011; Peña-Rosas et al., 2012).

Význam kyseliny listovej bol potvrdený aj v prevencii nádorových a srdcovocievnych ochorení. Viacerí autori publikovali súvislosť príjmu kyseliny listovej s výskytom kolorektálneho karcinómu. Predpokladá sa ovplyvnenie DNA metylácie, ktorá je dôležitá pre kontrolu riadenia expresie génov. Výsledky štúdií na zvieraciach modeloch a rozsiahlych epidemiologických štúdiách sú však protichodné (Jackson et al., 2006).

V prípade hyperhomocysteinémie sa predpokladá pozitívny vplyv suplementácie folátmi s redukciou poškodenia mozgu predčasne narodeného novorodenca (Jyothi et al., 2007).

Novorodenci predstavujú špecifickú skupinu detí. Po narodení stúpajú požiadavky organizmu na jednotlivé stavebné látky vzhľadom na rýchly telesný rast. Počas tehotenstva a v novorodeneckom veku je nevyhnutná

optimálna výživa s prísunom mikronutrientov pri prevencii výskytu anémií a infekcií (Couto et al., 2007).

MATERIÁL A METÓDY

Sledovaný súbor tvorili predčasne narodení novorodenci (pred ukončeným 37. gestačným týždňom; n=6) hospitalizovaní na Oddelení patologických novorodencov I. detskej kliniky Lekárskej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave. V súbore pacientov boli stanovené koncentrácie folátov v erythrocytoch v 1. týždni a v 4. týždni života dieťaťa.

Koncentrácie folátov v erythrocytoch boli stanovené imunochemickou metódou. Na analýzu folátov v erythrocytoch bolo potrebné vytvorenie hemolyzátu (100 µl periférnej krvi a 3 ml 0,2 % roztoku kyseliny askorbovej). Ďalším krokom bola inkubácia hemolyzátu, ktorá prebiehala po dobu 90 minút pri teplote 20-25°C. Hemolyzát bol následne umiestnený do vzorkovej oblasti analyzátoru *cobas e 411* s využitím komerčných setov Folate III (Roche Slovensko). Analýza folátov v erythrocytoch prebiehala elektrochemiluminiscenčne.

Práca analyzuje jednotlivé rizikové faktory ovplyvňujúce koncentráciu folátov v erythrocytoch (gestačný vek, strava, pridružené komplikácie a liečba) v sledovanej skupine novorodencov.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Súbor pacientov tvorili predčasne narodení novorodenci (n=6), ktorí boli narodení pred ukončeným 37. gestačným týždňom tehotenstva. Stanovené koncentrácie folátov v erythrocytoch prehľadne uvádza tabuľka 1. Priemerné hodnoty pre túto skupinu pacientov nie sú jednoznačne definované. U pacientov 1, 4, 5, 6 boli stanovené v 4. týždni života niekoľko násobne vyššie koncentrácie folátov v erythrocytoch oproti východnej hodnote.

Tab. 1 Koncentrácie folátov v erythrocytoch v sledovanom súbore

Koncentrácie folátov v erythrocytoch v sledovanom súbore						
pacient	pohlavie	gestačný týždeň	pôrodná hmotnosť (gram)	Apgar skóre (body)	RBC Folát v 1. týždni života (ng/ml)	RBC Folát v 4. týždni života (ng/ml)
1	♂	33	1260	9/10	806,16	2190
2	♀	34	1330	9/10	622	1419,61
3	♀	31	1490	10/8	1418,2	1908,2
4	♂	30	1200	3/6	4360,8	2449,6
5	♂	27	900	5/8	1214,04	5516,67
6	♂	28	1330	6/7	1306,5	2335,1

Vysvetlivky: RBC Folát - koncentrácia folátov v erythrocytoch

Je potrebné uviesť, že u všetkých nedonosených novorodencov, v čase 2. odberu bola prítomná anémia nedonoseného dieťaťa. U pacientov 5 a 6 bolo pri celkovom zhoršení stavu, prehĺbení anémie a súčasnej celkovej infekcii organizmu nevyhnutné podanie erythrocytárnej masy. Ďalšie pridružené komplikácie (anémia, IUGR - intrauterinná rastová retardácia, RDS - syndróm dychovej tiesne, CTP - centrálna tonusová porucha, IVH - intraventrikulárna hemorágia, ROP - retinopatia nedonoseného dieťaťa, sepsa) sú uvedené v tabuľke 2. Druh stravy dieťaťa (MM - materské mlieko, BMF - fortifikátor materského mlieka, Nenatal, Beba HA) je súčasťou tabuľky 2.

Za najpresnejší ukazovateľ saturácie organizmu folátmi je považovaná koncentrácia folátov v erythrocytoch (Hlúbik a Opltová, 2004).

Jednoznačný benefit fortifikácie a suplementácie kyselinou listovou bol celosvetovo publikovaný. V

skupine nedonosených novorodencov zohráva kyselina listová nielen preventívnu úlohu vzniku anémie, ale je aj súčasťou komplexnej liečby v tejto špecifickej skupine populácie.

V postnatálnom období obohacovanie umelých formlí a materského mlieka fortifikátormi s obsahom kyseliny listovej sa zdá byť postačujúce v prevencii deficitu folátov u nedonosených detí (Joythi et al., 2007). Deficit folátov v erythrocytoch vzniká pri poklese pod 140 ng/ml (Institute of Medicine, 1998). V nami sledovanom súbore nebol zistený deficit folátov v erythrocytoch v 1. týždni života v porovnaní s hodnotou, ktorú uvádza Institute of Medicine, 1998. Z našich doterajších analýz boli zistené koncentrácie folátov v erythrocytoch v 1. deň života v skupine nedonosených novorodencov (n=18) v rozpätí 790,25 - 1752,96 ng/ml (Žikavská et al., 2011). V našom súbore pacientov nachádzame v čase 2. odberu anémiu nedonoseného dieťaťa napriek vysokým hodnotám

Tab. 2 Komplikácie prematurity v sledovanom súbore pacientov a druh stravy

Komplikácie prematurity a druh stravy pacientov								
pacient	anémia	IUGR	RDS	CTP	IVH	sepsa	ROP	strava
1	áno	áno	nie	nie	nie	nie	nie	MM+BMF
2	áno	áno	nie	hypertonus	nie	nie	nie	Beba HA
3	áno	nie	áno	nie	áno	nie	áno	Nenatal, MM
4	áno	nie	áno	hypotonus	áno	áno	áno	MM+BMF
5	áno	nie	nie	nie	nie	áno	áno	Nenatal
6	áno	nie	nie	áno	áno	áno	nie	MM

Vysvetlivky: IUGR - intrauterinná rastová retardácia, RDS - syndróm dychovej tiesne, CTP - centrálna tonusová porucha, IVH - intraventrikulárna hemorágia, ROP - retinopatia nedonoseného dieťaťa;

MM - materské mlieko, BMF - fortifikátor materského mlieka, Beba HA - hypoalergénna formula Beba

koncentrácie folátov v erythrocytoch, čo je ukazovateľom dlhodobého stavu folátov v organizme.

Témou pre diskusiu ostáva horná tolerovateľná hranica perorálneho príjmu po narodení. Napriek dobrej rozpustnosti tohto vitamínu vo vode, pri skrátenej životnosti erythrocytov u predčasne narodených novorodencov (Hlúbik a Opltová, 2004) a možných epigenetických zmenách (Crider et al., 2011) je potrebný monitoring nezmetabolizovanej kyseliny listovej v organizme.

Riziko vedľajších účinkov pri nadmernom a dlhodobom podávaní kyseliny listovej sa ukazuje pre potenciálne rôznorodé účinky z hľadiska biologických, enviromentálnych a rasových rozdielov (Wehby et al., 2007). Pri akútnom nadmernom príjme folátov boli u potkanov opísané poruchy spätnej resorbcie z čreva, čo ovplyvňuje jeho využitie pre organizmus (Dev et al., 2010).

Horná hranica bezpečného denného príjmu kyseliny listovej u novorodenca nie je definitívne známa. Vo všeobecnosti je považovaná za bezpečnú hranicu dávka kyseliny listovej do 1mg denne per os v snahe zabrániť vzniku novej pernicioznej anémie (Sweeney et al., 2009). Stanovený horný limit príjmu kyseliny listovej bol u dospelých na 1mg denne a 600-800 µg u adolescentov. U dojčiacich a tehotných žien sú odporúčané denné dávky kyseliny listovej 300-400 µg (Turzová a Šmalová, 2008).

Otázkou ostáva skupina nedonosených novorodencov. Odporúčaná dávka kyseliny listovej u novorodencov je 60 µg denne (Gregory, 1997; Kajaba et al., 1997) Minimálny denný perorálny príjem kyseliny listovej u detí do prvého roka života je 30 µg, optimálny príjem je 50 µg kyseliny listovej denne (Jackson et al., 2006). U detí do šesť mesiacov života, ktoré sú plne dojčené, je koncentrácia folátov vysoká. Následne však koncentrácia folátov klesá na rozdiel od kobalamínu, čo znamená, že foláty pozitívne korelujú s dĺžkou výlučného dojčenia (Hay et al., 2008).

Súčasťou stravy, ako aj v skupine našich pacientov, sú umelé mliečne formuly pre nedonosené deti alebo fortifikátory slúžiace na obohatenie materského mlieka, ktoré často nepokrýva nároky živín potrebné pre rýchlo rastúci nezrelý organizmus. V materskom mlieku je koncentrácia folátov závislá od ich príjmu v strave matky, čo môže zabezpečiť vyvážená strava počas dojčenia.

V niektorých krajinách ako USA, Kanada alebo Chile pristúpili k povinnej fortifikácii vybraných druhov potravín (múka, cereálie) s cieľom prevencie vrodených vývojových chýb v populácii (Crider et al., 2011). Pri výrobe umelých mliečnych formlí je snaha zabezpečiť optimálny prísun všetkých živín vrátane mikronutrientov. V prípade našich pacientov sa v ich strave obsah kyseliny listovej líši (Nenatal - 28 µg/100 ml; Beba HA -12 µg/100 ml). Výrazný nárast koncentrácie folátov o takmer 130 % bol u pacientov 1, 2, 5 a 6. Je potrebné uviesť, že v prípade pacientov 5 a 6 mohlo koncentráciu folátov ovplyvniť podanie transfúzie erythrocytarnej masy.

Rozdielnosť v rámci obohatenia umelej mliečnej formuly uvádza Sweeney a kolektív vo svojej práci. V skupine 4-dňových novorodencov, ktorí prijímali umelú mliečnu formulu obohatenú kyselinou listovou boli stanovené jej koncentrácie v sére pupočníkovej krvi (0,185 µg/l) a následne na 4. deň života (0,468 µg/l) z päť

novorodenca. Napriek tomu, že v tom čase nebola zavedená povinná fortifikácia stravy kyselinou listovou v Írsku, novorodenci mali po 4 dňoch fortifikovanej stravy 2,5 násobne vyššie hladiny kyseliny listovej, čo súvisí s podávaním umelej mliečnej formuly (Sweeney et al., 2005). Vzhľadom na použitie odlišnej metódy stanovenia folátov v organizme nie sú hodnoty porovnateľné s našimi výsledkami.

Prísun folátov je možný aj u novorodenca z viacerých zdrojov. Nielen ako súčasť stravy a výživových doplnkov, ale aj v rámci prevencie anémie nedonoseného dieťaťa. V našom súbore každý pacient užíval kyselinu listovú v dávke 5 mg per os týždenne.

ZÁVER

Kyselina listová má svoju nezastupiteľnú úlohu u rýchlo rastúceho organizmu. Jej prísun je zabezpečený nielen v strave, ale aj v rámci prevencie a liečby anémie nedonoseného dieťaťa.

Otázka stanovenia optimálnej dávky kyseliny listovej v novorodeneckom období ostáva nezodpovedaná. Zistenia rozdielných hodnôt kyseliny listovej v niektorých krajinách viedli k odlišnému prístupu v povinnej fortifikácii potravín kyselinou listovou.

Na základe našich doterajších výsledkov navrhujeme, aby rozpätie hodnôt dávky kyseliny listovej vychádzalo zo stravovacích návykov a zvyklostí v jednotlivých krajinách s ohľadom na špecifiká novorodeneckého veku.

Úlohou ďalšieho sledovania by malo byť monitorovanie a zistenie vplyvu nezmetabolizovaných foriem kyseliny listovej v novorodeneckom období.

LITERATÚRA

Bánhidý, F., Dakhalaoui, A., Puhó, E. H., Czeizel, A. A. E. 2011. Is there a reduction of congenital abnormalities in the offspring of diabetic pregnant women after folic acid supplementation? Population-based case-control study. *Congenital Anomalies*, vol. 51, p. 80-86. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1741-4520.2010.00302.x> PMID:21039913

Beaudin, A. E., Stover, P. J. 2007. Folate-mediated one-carbon metabolism and neural tube defects: Balancing genome synthesis and gene expression. *Birth Defects Research (Part C)*, vol. 81, no. 3, p. 183-203. <http://dx.doi.org/10.1002/bdrc.20100> PMID:17963270

Canfield, M. A., Collins, J. S., Botto, L. D., Williams, L. J., Mai, C. T., Kirby, R. S., Pearson, K., Devine, O., Mulinare, J. 2005. Changes in the birth prevalence of selected birth defects after grain fortification with folic acid in the United States: Findings from a multi-state population-based study. *Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology*, vol. 73, no. 10, p. 679-689.

<http://dx.doi.org/10.1002/bdra.20210> PMID:16240378

Couto, F. D., Moreira, L. M., dos Santos, D. B., Reis, M. G., Gonçalves, M. S. 2007. Folate, vitamin B12 and total homocysteine levels in neonates from Brazil. *European Journal of Clinical Nutrition*, vol. 61, no. 3, p. 382-386. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602528> PMID:16988650

Crider, K. S., Bailey, L. B., Berry, R. J. 2011. Folic acid food fortification - its history, effect, concerns, and future directions. *Nutrients*, no. 3, p. 370-384. <http://dx.doi.org/10.3390%2Fnu3030370>, PMID: PMC3257747

- Dary, O. 2009. Nutritional interpretation of folic acid interventions. *Nutrition Reviews*, vol. 67, no. 4, p. 235-244. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1753-4887.2009.00193.x>
- Dev, S., Wani, A., Kaur, J. 2010. Regulatory mechanisms of intestinal folate uptake in a rat model of folate oversupplementation. *British Journal of Nutrition*. Vol. 105, issue 105, p. 827-835 <http://dx.doi.org/10.1017/S0007114510004538>
- Gregory, J. F. 1997. Bioavailability of folate. *European Journal of Clinical Nutrition*, vol. 51 (Suppl 1), p. 554-559.
- Hay, G., Johnston, C., Whitelaw, A., Trygg, K., Refsum, H. 2008. Folate and cobalamin status in relation to breastfeeding and weaning in healthy infants. *American Journal of Clinical Nutrition*, no. 88, vol. 1, p. 105-114. [PMid:18614730](http://dx.doi.org/10.1093/ajcn/88.1.105)
- Hlúbik, P., Opltová, L. 2004. Vitamíny. Praha: Grada Publishing. 232 p. ISBN 80-247-0373-4. [PMid:15141970](http://dx.doi.org/10.1017/S0007114510004538)
- Institute of Medicine, Food and Nutrition Board. 1998. Dietary reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B6, folate, vitamin B12, pantothenic acid, biotin, and choline / a report of the Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes and its Panel on Folate, Other B Vitamins, and Choline and Subcommittee on Upper Reference Levels of Nutrients, National Academy Press, Washington, DC. 196-305 p. ISBN 0309065542.
- Jackson, A. et al. 2006. *Folate and disease prevention*. London, United Kingdom, The Stationery Office. 222 p. ISBN 978 0 11 243111 4.
- Joythi, S., Misra, I., Morris, G., Benton, A., Griffin, D., Allen, S. 2007. Red cell folate and plasma homocysteine in preterm infants. *Neonatology*, vol. 92, p. 264-268. <http://dx.doi.org/10.1159/000103745> [PMid:17556845](http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17556845/)
- Kajaba, I., Šimončík, R., Ginter, E., Ondrejka, J., Trusková, I., Kaláč, J., Bzdúch, V. Odporúčané výživové dávky pre obyvateľstvo SR - platné od r. 1997. Retrieved from the web: <http://www.jedalne.sk/sk/public/tabulka1.pdf>
- Peña-Rosas, J. P., De-Regil, L. M., Dowswell, T., Viteri, F. E. 2012. Daily oral iron supplementation during pregnancy. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, Issue 12. Art. No.:CD004736. <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD004736.pub3>
- Sweeney, M. R., McPartlin, J., Weir, D. G., Daly, S., Pentieva, K., Daly, L., Scott, J. M. 2005. Evidence of unmetabolized folic acid in cord blood of newborn and serum of 4-day-old infants. *British Journal of Nutrition*, vol. 94, p. 727-730. <http://dx.doi.org/10.1079/BJN20051572> [PMid:16277775](http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16277775/)
- Sweeney, M. R., Staines, A., Daly, L., Traynor, A., Daly, S., Bailey, S. W., Alverson, P. B., Ayling, J., Scott, J. M. 2009. Persistent circulating unmetabolized folic acid in a setting of liberal voluntary folic acid fortification. Implications for further mandatory fortification? *BMC Public Health*, vol. 9, no. 295, p. 1-7. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2458-9-295> [PMid:19689788](http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19689788/)
- Takimoto, H., Hayashi, F., Kusama, K., Kato, N., Yoshiike, N., Toba, M., Ishibashi, T., Miyasaka, N., Kubota, T. 2011. Elevated maternal serum folate in the third trimester and reduced fetal growth: a longitudinal study. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, vol. 57, p. 130-137. <http://dx.doi.org/10.3177/jnsv.57.130> [PMid:21697631](http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21697631/)
- Turzová, A., Šmalová, I. 2008. Význam kyseliny listovej pre zdravie. *TRENDY v potravinárstve*, vol. XV, no. 2, p. 16-17.
- Wehby, G. L., Murray, J. C. 2007. The effect of prenatal use of folic acid and other dietary supplements on early child development. *Maternal and Child Health Journal*, vol. 12, p. 180-187. <http://dx.doi.org/10.1007/s10995-007-0230-3> [PMid:17554612](http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17554612/)
- Wilcox, A. J., Lie, R. T., Solvoll, K., Taylor, J., McConaughy, D. R., Abyholm, F., Vindenes, H., Vollset, S. E., Drevon, C. A. 2007. Folic acid supplements and risk of facial clefts: national population based case-control study. *BMJ*, 334(7591): 464. <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.39079.618287.0B> [PMid:17259187](http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17259187/)
- Žikavská, T., Brucknerová, I., Vasilenková, A., Behúlová, D., Franková E. 2011. Stanovenie koncentrácie folátov v erytrocytoch u novorodenca - naše prvé skúsenosti. Sborník abstraktu a prednášok. Plzeň. p 58. ISBN 978-80-7177-990-2.

Acknowledgments:

I would like to thank for measurement of red blood cell folate concentration levels to our colleagues from Department of Clinical Biochemistry in Children's Hospital Bratislava, Slovakia.

This work was supported by grant UK (GUK 376/2012).

Contact address:

Tatiana Zikavska, M. D., Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Comenius University in Bratislava, Limbova 1, 833 40 Bratislava, Slovak Republic, E-mail: zikavska@gmail.com.

Ingrid Brucknerova Assoc Prof, M. D., PhD., Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Comenius University in Bratislava, Limbova 1, 833 40 Bratislava, Slovak Republic, E-mail: osmium@centrum.sk.