

妇女围孕期补充叶酸与多胎妊娠关系的研究进展

任爱国 李竹

【关键词】 叶酸; 多胎妊娠; 双胎妊娠
Periconceptional folic acid supplementation and multiple births: a review REN Ai-guo, LI Zhu. Institute of Reproductive and Child Health, Peking University Health Science Center, Beijing 100083, China
【Key words】 Folic acid; Multiple births; Twin pregnancy

随机对照临床试验和人群干预试验证实^[1-4], 妇女围孕期增补叶酸可以降低后代神经管畸形危险性的70%~85%。1992年, 美国健康与人类服务部公共卫生事务处建议: 所有可能怀孕的妇女每日常规增补0.4 mg叶酸^[5]。随后, 英国、加拿大等许多国家也提出了类似的建议^[6]。中国卫生部、计划生育委员会和全国妇联等有关部门和组织也在全国育龄妇女中推广增补叶酸^[7]。妇女增补叶酸预防胎儿神经管畸形应从孕前3个月开始, 直至妊娠满3个月。但是, 有许多妊娠不是计划的, 并且准确计划妊娠是很困难的事。因此, 许多妇女知道自己怀孕后才开始服用叶酸增补剂, 但此时往往已经错过了预防胎儿神经管畸形的最佳时机(神经管在妊娠28天内形成)。针对这种情况, 美国食品药品监督管理局制定了叶酸强化食品政策^[8], 要求自1998年1月1日起, 所有强化食品中必须添加叶酸(140 μg叶酸/100 g面粉)。目前, 世界上有近40个国家已经或准备实施叶酸食品强化措施^[9]。我国也正在西部退耕还林地区开展营养素(含叶酸)强化面粉试点研究。

妇女增补叶酸和食品叶酸强化的安全性一直是学术界和全社会十分关注的问题^[10], 其中包括多胎妊娠的危险性。多胎妊娠的早产、低出生体重、围产儿死亡、新生儿死亡以及产时并发症(如脑瘫)等的危险性高于单胎妊娠。如果妇女围孕期补充叶酸真的增加多胎妊娠发生率的话, 因额外增加的多胎妊娠所造成的危害可能抵消甚至超过对胎儿神经管畸形预防所带来的益处, 尤其在神经管畸形发生率较低的国家 and 地区^[11]。因此, 叶酸与多胎妊娠的关系问题不但是一个理论问题, 更是一个对妇幼保健实践和公共卫生政策制定有决定性影响的问题。

1. 服用叶酸增补剂与多胎妊娠: 妇女增补叶酸可能增加多胎妊娠危险性的报道最初来自于匈牙利的一项叶酸预防胎儿神经管畸形随机对照临床试验^[12, 13], 是该研究的一个意外发现。在研究中, 干预组妇女每日服用一片含有包括0.8 mg叶酸在内的12种维生素、4种矿物质和3种微量元素的增补剂; 对照组每日服用一片含有3种微量元素的增补

剂。结果发现, 多种维生素组2468例出生中有92对双胎和1例3胎(3.8%), 而微量元素组2378例出生中有64对双胎(2.7%), 服用多种维生素发生多胎妊娠的危险性为服用微量元素的1.407倍($P=0.03$), 即, 服用含叶酸多种维生素使多胎妊娠的危险性增加41%。由于使用促排卵药物(如克罗米酚)可以导致多胎妊娠, 因此, 作者按照妇女是否接受克罗米酚治疗分层分析, 结果, 无论在接受还是未接受克罗米酚治疗亚层, 多种维生素组的多胎发生率均高于微量元素组。有必要指出的是, 参加研究的妇女在孕前3个月的准备期内每日测定基础体温, 如发现可疑激素分泌异常(如不排卵或黄体功能不全), 研究人员会建议妇女做进一步检查或治疗(如使用克罗米酚等)。结果, 多种维生素组有7.3%、微量元素组有7.9%的妇女接受刺激排卵治疗。这可能是该研究中两组的双胎生育率均高于匈牙利全国2.2%的双胎率的原因之一。

随后, Werler等^[14]将美国“亚特兰大出生缺陷病例对照研究(ABDCCS)”、“加利福尼亚出生缺陷监测项目(CBDMP)”和波士顿大学“Slone流行病学组出生缺陷研究(SEU-BDS)”的现有数据库分为3个缺陷和2个非缺陷共5个子数据库, 来分析妇女围孕期(孕前开始至孕3个月)、早期(怀孕第1个月开始至孕3个月)和晚期(孕第2个月或第3个月开始)增补多种维生素与多胎妊娠之间的关系。结果发现, 在5个数据库中, 有4个显示围孕期增补多种维生素使多胎妊娠的危险性增加30%~60%, 而早期和晚期增补组增加的幅度要小。似乎可以提示, 增补多种维生素通过增加多胎的发生, 而不是通过增加多胎的宫内存活而增加多胎出生率。但是, 该研究样本量较小, 所有结果均无统计学意义。

Mathews等^[15]对英国医学研究会“叶酸预防神经管畸形再发研究”和另一个研究的数据进行了二次分析^[11], 结果发现, 两个研究中增补叶酸组的多胎妊娠率(分别为1.18%和1.65%)均高于未增补叶酸组(分别为0.83%和1.52%), 但差异均无统计学意义。

Ericson等^[16]利用瑞典全国医学出生登记系统数据对妇女服用叶酸与多胎妊娠之间的关系进行了分析。妇女服用叶酸或多种维生素信息在妇女孕早期到医疗机构进行检查时通过问诊收集。结果发现, 单纯服用叶酸妇女双胎生育率为2.8%, 服用多种维生素(多数每片含0.2 mg叶酸)且未加服叶酸妇女双胎生育率为1.9%。而瑞典全国双胎生育率为1.5%。在调整了新生儿出生年、母亲年龄、非意愿性无子(提示有不育史)年数等混杂因素后, 服用多种维生素妇女生育多胎的危险性增加26% ($OR=1.26, 95\% CI: 0.91\sim 1.70$); 服用叶酸妇女生育多胎的危险性增加46% ($OR=$

1.46, 95% CI: 1.15~1.87)。排除具有非意愿性无子史的妇女后结果类似。该研究还发现,瑞典全国医学出生登记系统对妇女孕早期叶酸信息的记录漏报率很高(登记系统的服用率为 0.6%, 专项调查的服用率为 8%)。

1993-1996 年,北京大学医学部与美国疾病预防控制中心在我国进行了一项叶酸预防神经管畸形的大规模人群干预试验^[3,4]。该项目建议所有妇女从婚检或孕早期开始每日增补 0.4 mg 叶酸,直至妊娠满 3 个月。无论是否服用叶酸,这些妇女均被随访至分娩。李竹等^[17]对其中 127 018 名服用叶酸的妇女和 114 997 名未服用叶酸的妇女妊娠情况分析发现,叶酸增补组的多胎妊娠发生率为 0.59%,未增补组为 0.65%。两组之间的差异无统计学意义 ($OR = 0.91$, 95% CI: 0.82~1.00)。调整可能的混杂因素之后结果类似。

Czeizel, Vargha^[18]利用 1980-1996 年间匈牙利“先天异常病例对照监测”研究中对照组妇女的数据,对增补叶酸和维生素与多胎妊娠的危险性作了进一步分析。增补分为单纯叶酸(大多数每日 6 mg)、含叶酸(0.1~1.0 mg)多种维生素、或单纯叶酸+含叶酸多种维生素三组。38 151 名妇女生育 395 对双胞胎(1.04%)。与未增补叶酸妇女组比较,孕前开始增补单纯叶酸组发生多胎的危险性为 1.60(95% CI: 0.95~2.69),怀孕后开始增补组为 1.38(95% CI: 1.04~1.82);怀孕前开始增补含叶酸多种维生素组生育双胎的危险性为 2.98(95% CI: 1.35~6.58)、怀孕后开始增补组为 2.08(95% CI: 1.16~3.72);怀孕前开始增补单纯叶酸+多种维生素组生育双胎的危险性为 0.90(95% CI: 0.16~8.49),怀孕后开始增补组为 2.59(95% CI: 1.64~4.19)。孕前开始增补合计的双胎危险性为 1.80(95% CI: 1.14~2.85),怀孕后开始增补合计的双胎危险性为 1.50(95% CI: 1.15~1.97)。提示,孕前及孕后增补叶酸均可能通过提高双胎的存活率而增加双胎出生率,而是否增加双胎的发生尚不能肯定。另外,如果按照叶酸剂量计算,没有呈现叶酸+多种维生素>单纯叶酸>多种维生素的剂量反应关系。

2. 叶酸食品强化与多胎妊娠:除了围孕期服用叶酸增补剂之外,叶酸食品强化与多胎妊娠之间的关系也引起了广泛的关注。一是因为强化之后妇女实际获得的叶酸量高于当初预测剂量^[19];二是强化后几乎所有妇女均暴露于叶酸,即使危险性轻度增加,也会因为暴露人数众多而产生广泛的人群效应。美国的叶酸强化食品项目在 1996 年 3 月至 1997 年底期间为自愿强化阶段;1998 年 1 月开始则为强制性强化^[8]。因此,比较叶酸强化食品前后多胎出生率的变动趋势,可以为叶酸与多胎妊娠这一问题提供线索。

Shaw 等^[20]分析了美国加利福尼亚州 1990-1999 年间 260 多万出生的多胎出生率变动趋势。结果显示,多胎出生率在研究期间一直呈上升趋势,1997-1998 年间(自愿强化期间受孕者)可见一个上升的小高峰;1998-1999 年间(强制性强化实施后)呈现平台甚至略微下降。在调整了年龄、种族、产次等混杂因素后,未发现食品强化与多胎的危险性有

关。Waller 等^[21]对德克萨斯州 1996-1998 年间 100 多万出生的分析发现,在调整了受孕季节、年龄、种族、产次、文化程度等因素后,与 1996 年受孕者比较,1997 年受孕者双胎的可能性增加 2.4%;与 1997 年相比,1998 年受孕者多胎的可能性增加 4.6%。不过,在叶酸强化食品之前,美国全国的双胎出生率以每年 1%~4% 的速度递增。作者认为,没有观察到由于食品强化可能引起的双胎出生率的额外增加。Kucik, Correa^[22]对乔治亚州亚特兰大 5 个县 1990-2001 年间出生的 51 万新生儿数据分析表明,与强化前比较,强化后多胎出生率上升了 18% ($P < 0.01$)。多胎出生率的上升趋势主要发生在年龄 30 岁以上妇女(上升 23%);30 岁以下妇女组的多胎出生率未见明显升高。年龄 30 岁以上妇女的多胎出生率在食品强化前就一直呈现比较明显的上升趋势。因此推测,可能与年龄较大妇女越来越多地利用辅助生殖技术有关。这一推测被另外一项在美国进行的研究证实:多胎妊娠妇女中使用促排卵药物的比例从 1994 年的 6.6% 上升到了 2000 年的 14.9%。而在排除了使用促排卵药物的妇女后,7 年间多胎出生率没有明显升高^[23]。

辅助生殖技术与多胎的发生有直接的关系。但在以出生登记为基础的研究中难于得到个体的辅助生殖技术服务利用的信息。鉴于辅助生殖技术的利用以年龄大者为主,因此,Signore 等^[24]利用全美 16~19 岁初产妇女的生育数据进行分析,期望能够排除辅助生殖技术的可能影响。通过对 1990-2000 年间全美 16~19 岁妇女所生育的 25 065 对双胞胎和 3 362 245 例单胎分析表明,食品强化之前(1990 年 1 月至 1996 年 11 月),16~19 岁妇女生育的双胎率没有明显升高 ($P = 0.13$),而在食品强化之后,双胎率有轻微增加 ($P = 0.006$),每年的增加幅度为 2.4%。但作者认为,由于在食品强化之后的数月内人群的血液叶酸水平就已达到一个平台,而双胎率仍在继续增加,与叶酸强化的作用不一致。

3. 同卵双胎和异卵双胎分析:一般认为,同卵双胎不受种族、遗传因素、妇女生育年龄和产次等影响;而异卵双胎除受种族、遗传、妇女生育年龄、产次等影响外,还受促生育药物以及营养状况的影响^[25]。因此,假如围孕期增补叶酸增加生育双胎可能性的话,应主要是增加异卵双胎。由于在人群研究中缺乏单、异卵双胎的正确诊断信息,因此多用异性双胎(肯定是异卵双胎)来进行分析。

在前述瑞典的研究中^[16],服用叶酸增加异卵双胎的危险性 ($OR = 2.13$, 95% CI: 1.64~2.74),而不增加同卵双胎的危险性 ($OR = 0.52$, 95% CI: 0.21~1.08)。Kallen^[26]利用瑞典医学出生登记资料,对 1995-2001 年间全国 8676 名生育异性双胎妇女的叶酸增补剂服用数据进行了分析。结果发现,在调整了出生年、母亲生育年龄、产次、吸烟等混杂因素后,围孕期增补叶酸(主要为每日 0.4 mg 叶酸)使得生育异性双胎的危险性增加 71% ($OR = 1.71$, 95% CI: 1.21~2.42);2000-2001 年间更甚,危险性增加一倍 ($OR = 2.09$, 95% CI: 1.39~3.12)。而在匈牙利的研究中,服用含叶酸多

种维生素组的异卵双胞胎率并不比服用微量元素组高^[13]。

在挪威, Vollset 等^[27] 利用 1998-2001 年全国医学出生登记的 176 042 例出生数据 (3154 对双胞胎), 对服用叶酸与双胎危险性之间的关系进行了分析。服用叶酸组生育异性双胎的危险性未做任何调整时为 2.35 (95% CI: 1.97~2.80); 调整妇女生育年龄和产次后, OR 值为 2.06 (95% CI: 1.73~2.45); 调整生育年龄、产次以及体外受精后, OR 值为 1.23 (95% CI: 1.02~1.49)。该研究通过对不同来源的数据进行比较发现, 有 12.7% 的体外受精妇女被错分为自然怀孕妇女; 有 45% 的妇女服用叶酸, 但记录为未服用叶酸。在对生育年龄和产次以及上述错分进行调整后, 孕前开始服用叶酸生育异卵双胎的危险性增加 26% (OR = 1.26, 95% CI: 0.91~1.73); 而在对年龄、产次和错分调整后, 怀孕后开始服用多种维生素使异性双胎妊娠的危险性增加 54% (OR = 1.54, 95% CI: 1.22~1.96)。孕前开始服用叶酸引起的双胎危险性并不比怀孕后开始服用含叶酸多种维生素高, 而且很可能由随机误差所致 (OR 值 95% CI 包括 1)。

4. 辅助生殖技术的混杂作用: 众所周知, 各种辅助生殖技术 (包括使用促排卵药物和促孕激素、体外受精等) 增加多胎妊娠的危险性。如在瑞典, 体外受精者 22.8% 生育双胎, 未接受体外受精妇女双胎率仅为 1.2%^[28]; 匈牙利的数据显示, 使用促排卵药物妇女的双胎生育率为未使用促排卵药物妇女的 10 倍以上^[12]。另一方面, 利用辅助生殖技术的妇女服用叶酸或含叶酸多种维生素的比例高于自然妊娠妇女^[27]。因此, 在研究叶酸与多胎妊娠关系时, 辅助生殖技术的利用是一个很强的正向混杂因子。如果不对这一因素进行控制, 或者数据中存在区分性错分, 可能得出服用叶酸与多胎妊娠之间的虚假联系。

Berry 等^[28] 利用瑞典 1995-1999 年的生命统计数据, 对体外受精错分可能产生的影响进行了模拟研究。在叶酸与双胎不存在联系的情况下, 假设体外受精怀孕的妇女叶酸服用率为 50%, 而没有接受体外受精的妇女叶酸服用率为 8%, 可以得到服用叶酸与双胎妊娠存在联系的虚假结论 (粗 OR = 2.44, 95% CI: 2.30~2.59)。体外受精错分 (错分为非体外受精) 比例越高, 虚假联系的 OR 值越大; 即使 5% 的错分也会产生增补叶酸与双胎妊娠之间的虚假联系 (OR = 2.02)。在前述挪威的研究中^[27], 体外受精和服用叶酸两个因素的错分是十分可观的 (分别为 12.7% 和 45%)。因此, 在体外受精比较普遍的国家 and 地区, 叶酸与多胎妊娠之间的统计学联系很可能是由于体外受精和服用叶酸错分所导致的。在瑞典和挪威的研究中, 辅助生殖技术的利用和服用叶酸的错分比例确实很高^[16, 27]。而在中国的研究中^[17], 由于当时通过体外受精而怀孕者极少, 并且服用叶酸的信息是前瞻性记录的, 因而不会受到这种错分的影响^[28], 结果应该更有说服力^[29]。

5. 叶酸代谢酶基因多态性与多胎妊娠: 一项小规模研究发现, 携带 5, 10-亚甲基四氢叶酸还原酶基因 (MTHFR)

677C→T 突变基因的妇女生育异卵双胎的可能性比非突变妇女低一倍以上 (OR = 0.44, 95% CI: 0.23~0.83)^[30]。677C→T 突变使酶活性降低, 机体对叶酸的需要量增大。如果此时叶酸摄入不足, 作为甲基供体的 S-腺苷同型半胱氨酸合成将会受到影响, 进而导致同型半胱氨酸复甲基化受阻, 体内同型半胱氨酸积聚。同型半胱氨酸具有胚胎毒性。另外, 甲基供体的不足会导致细胞内甲基化反应不足。DNA 甲基化不足可能导致 DNA 螺旋断裂、染色体脆性增加, 并可能损害 DNA 合成, 影响基因调控。双胎妊娠母体对叶酸的需要量更大, 如果体内叶酸不足, 可能通过上述机制影响快速生长发育之中的胚胎, 甚至导致流产。Meta 分析表明, 妇女体内同型半胱氨酸水平升高及 TT 基因型均增加早期自然流产的危险性^[31], 而补充叶酸, 尤其大剂量叶酸可能扭转上述过程, 使得胚胎得以继续发育, 存活至出生的概率增加^[32]。中国人 MTHFR 基因 TT 基因型频率较高, 被认为与双胎出生率低有关^[30]。在我国, 未观察到妇女每日增补 0.4 mg 叶酸使双胎出生率增加^[17]。这可能是因为我国叶酸增补剂量较低, 不足以完全消除 MTHFR 突变的人群效应, 或者妇女中使用排卵刺激治疗的比例低的缘故^[28]。

6. 动物实验证据: Matte 等^[33] 采用 2×2 非平衡裂区设计检验静脉注射叶酸和充足饲料对母猪产仔数的影响。结果表明, 常规饲料喂养条件下, 注射叶酸组的窝均仔数 (11.4) 和窝均活仔数 (10.7) 均高于对照组 (分别为 11.2 和 10.5); 充足饲料喂养条件下, 注射叶酸组的窝均仔数 (12.8) 和窝均活仔数 (12.0) 与对照组 (分别为 11.5 和 10.9) 之间的差别更大, 叶酸的作用显著 (P < 0.04)。Lindemann, Kornegay^[34] 往猪饲料内添加 1 ppm 的叶酸可以提高窝均仔数 (11.17; 对照组: 10.23) 和窝均活仔数 (10.79; 对照组: 9.86) (P 值均 < 0.05)。认为, 饲料内添加叶酸可以增加生产仔数, 并有可能提高猪的受孕率。窝均仔数的增加可能是排卵数量增加, 也有可能是胚胎或胎猪娩出前死亡减少所致^[35]。为此, Tremblay 等^[36] 对此进行了研究, 作者采用 2×3 因子设计来评价补充叶酸 (空白和 5 mg/kg 食物) 和影响排卵因素 (一般食物、充足食物、注射孕猪的血清促性腺激素) 的作用。结果显示, 补充叶酸使总的胚胎存活率增加 7%。补充叶酸的作用在促性腺激素处理组更明显, 胚胎存活率增加 10%。这与 Czeizel 等^[12] 在匈牙利的人群研究中观察到的结果一致, 即, 含叶酸多种维生素的致多胎作用可能与参加研究的妇女接受促排卵治疗的比例较高有关。

Thaler 等^[37] 对不同剂量的叶酸的作用进行了检验, 结果显示, 每公斤饲料含 1.65 mg 和 6.62 mg 叶酸组的窝均仔数 (分别为 10.58 和 9.73) 高于空白对照组 (9.09); 窝均活仔数 (分别为 9.61 和 8.48) 也高于空白对照组 (8.07), (P 值均 < 0.05), 但并未呈现剂量反应关系。国内有研究显示, 饲料内叶酸添加剂量分别为 0.2 和 6 mg/kg 三组的窝产仔数 (10.67、11.33、12.56) 和窝产活仔数 (10.22、10.78、11.56) 均呈现剂量反应关系^[38]。另一项研究也观察到了类似的结果^[39]。

但有个别研究未发现饲料中添加叶酸能够提高猪的生产力。如 Harper 等^[40] 比较了往猪饲料中分别添加 1、2、4 ppm 叶酸与未添加叶酸对照组窝均仔数和窝均活仔数等指标,结果未发现各实验组与对照组间存在差异。

7. 小结:根据 Hill 病因学推断要点,对叶酸与多胎妊娠之间的联系作出如下判断:①联系强度:服用叶酸与多胎妊娠之间的联系较弱,大多数研究的 OR 或 RR 值 < 2.0;②联系的普遍性:不同国家、不同人群、不同研究方法之间的研究结果不尽相同;③联系的特异性:补充叶酸与多胎妊娠之间不存在特异性;④时间顺序:由于多数研究是随机对照临床试验或者是人群干预试验,可以肯定补充叶酸先于多胎妊娠的发生;⑤剂量反应关系:无人群研究报道,动物实验有呈现剂量反应关系的报道;⑥生物学的合理性:叶酸增加多胎妊娠危险性从生物学上是可能的;⑦联系的一致性:美国和欧洲国家育龄妇女血液叶酸水平较高,多胎率也较高,而我国育龄妇女血液叶酸水平较低,多胎率也较低;从 20 世纪 90 年代开始,美国、澳大利亚等国家开始在育龄妇女中推广叶酸和采用叶酸强化食品,多胎发生率在这些国家也呈上升趋势^[20,21,41];⑧实验证据:有动物实验证据。

综合分析妇女围孕期补充叶酸与多胎妊娠危险性之间的关系尚不能肯定,有必要继续进行研究。

参 考 文 献

- MRC Vitamin Study Research Group. Prevention of neural tube defects: results of the Medical Research Council Vitamin Study. *Lancet*, 1991, 338: 131-137.
- Czeizel AE, Dudas I. Prevention of the first occurrence of neural-tube defects by periconceptional vitamin supplementation. *N Engl J Med*, 1992, 327: 1832-1835.
- Berry RJ, Li Z, Erickson JD, et al. Prevention of neural-tube defects with folic acid in China. China-U. S. Collaborative Project for Neural Tube Defect Prevention [corrected; erratum to be published]. *N Engl J Med*, 1999, 341: 1485-1490.
- 李竹, Berry RJ, 李松, 等. 中国妇女妊娠前后单纯服用叶酸对神经管畸形的预防效果. *中华医学杂志*, 2000, 80: 493-498.
- Centers for Disease Control. Recommendations for the use of folic acid to reduce the number of cases of spina bifida and other neural tube defects. *MMWR Recomm Rep*, 1992, 41: 1-7.
- Botto LD, List A, Robert-Gnansia E, et al. International retrospective cohort study of neural tube defects in relation to folic acid recommendations: are the recommendations working? *BMJ*, 2005, 330: 571-573.
- 李竹, 陈新, 赵平, 等. 妇女增补叶酸预防神经管畸形推广研究五年成果和工作总结. 2001, 17: 725-727.
- FDA. Proposed rule. Food standards: amendment of the standards of identity for enriched grain products to require addition of folic acid. *Fed Regist*, 1993, 58: 53305-53312.
- Wald NJ. Folic acid and the prevention of neural-tube defects. *N Engl J Med*, 2004, 350: 101-103.
- 任爱国, 张乐, 李智文, 等. 围孕期预防胎儿神经管畸形增补叶酸的剂量和安全性. *中国生育健康杂志*, 2004, 15: 365-367.
- Lumley J, Watson L, Watson M, et al. Modelling the potential impact of population-wide periconceptional folate/multivitamin supplementation on multiple births. *BJOG*, 2001, 108: 937-942.
- Czeizel AE, Metneki J, Dudas I. The higher rate of multiple births after periconceptional multivitamin supplementation: an analysis of causes. *Acta Genet Med Gemellol (Roma)*, 1994, 43: 175-184.
- Czeizel AE, Metneki J, Dudas I. Higher rate of multiple births after periconceptional vitamin supplementation. *N Engl J Med*, 1994, 330: 1687-1688.
- Werler MM, Cragan JD, Wasserman CR, et al. Multivitamin supplementation and multiple births. *Am J Med Genet*, 1997, 71:

93-96.

- Mathews F, Murphy M, Wald NJ, et al. Twinning and folic acid use. *Lancet*, 1999, 353: 291-292.
- Ericson A, Kallen B, Aberg A. Use of multivitamins and folic acid in early pregnancy and multiple births in Sweden. *Twin Res*, 2001, 4: 63-66.
- Li Z, Gindler J, Wang H, et al. Folic acid supplements during early pregnancy and likelihood of multiple births: a population-based cohort study. *Lancet*, 2003, 361: 380-384.
- Czeizel AE, Vargha P. Periconceptional folic acid/multivitamin supplementation and twin pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 2004, 191: 790-794.
- Choumenkovich SF, Selhub J, Wilson PW, et al. Folic acid intake from fortification in United States exceeds predictions. *J Nutr*, 2002, 132: 2792-2798.
- Shaw GM, Carmichael SL, Nelson V, et al. Food fortification with folic acid and twinning among California infants. *Am J Med Genet A*, 2003, 119: 137-140.
- Waller DK, Tita AT, Annegers JF. Rates of twinning before and after fortification of foods in the US with folic acid, Texas, 1996 to 1998. *Paediatr Perinat Epidemiol*, 2003, 17: 378-383.
- Kucik J, Correa A. Trends in twinning rates in metropolitan Atlanta before and after folic acid fortification. *J Reprod Med*, 2004, 49: 707-712.
- Lawrence JM, Watkins ML, Chiu V, et al. Food fortification with folic acid and rate of multiple births, 1994-2000. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2004, 70: 948-952.
- Signore C, Mills JL, Cox C, et al. Effects of folic acid fortification on twin gestation rates. *Obstet Gynecol*, 2005, 105: 757-762.
- Hankins GV, Saade GR. Factors influencing twins and zygosity. *Paediatr Perinat Epidemiol*, 2005, 19 Suppl 1: s8-s9.
- Kallen B. Use of folic acid supplementation and risk for dizygotic twinning. *Early Hum Dev*, 2004, 80: 143-151.
- Vollset SE, Gjessing HK, Tandberg A, et al. Folate supplementation and twin pregnancies. *Epidemiology*, 2005, 16: 201-205.
- Berry RJ, Kihlberg R, Devine O. Impact of misclassification of in vitro fertilisation in studies of folic acid and twinning: modelling using population based Swedish vital records. *BMJ*, 2005, 330: 815.
- Bailey LB, Berry RJ. Folic acid supplementation and the occurrence of congenital heart defects, orofacial clefts, multiple births, and miscarriage. *Am J Clin Nutr*, 2005, 81: 1213s-1217s.
- Hasbargen U, Lohse P, Thaler CJ. The number of dichorionic twin pregnancies is reduced by the common MTHFR 677C→T mutation. *Hum Reprod*, 2000, 15: 2659-2662.
- Nelen WL, Blom HJ, Steegers EA, et al. Hyperhomocysteinemia and recurrent early pregnancy loss: a meta-analysis. *Fertil Steril*, 2000, 74: 1196-1199.
- 任爱国, 杨旭辉, 李竹. 同型半胱氨酸代谢与习惯性流产关系的研究进展. *中国生育健康杂志*, 2005, 16: 374-377.
- Matte JJ, Girard CL, Brisson GJ. Folic acid and reproductive performances of sows. *J Anim Sci*, 1984, 59: 1020-1025.
- Lindemann MD, Kornegay ET. Folic acid supplementation to diets of gestating-lactating swine over multiple parities. *J Anim Sci*, 1989, 67: 459-464.
- Lindemann MD. Supplemental folic acid: a requirement for optimizing swine reproduction. *J Anim Sci*, 1993, 71: 239-246.
- Tremblay GF, Matte JJ, Dufour JJ, et al. Survival rate and development of fetuses during the first 30 days of gestation after folic acid addition to a swine diet. *J Anim Sci*, 1989, 67: 724-732.
- Thaler RC, Nelssen JL, Goodband RD, et al. Effect of dietary folic acid supplementation on sow performance through two parities. *J Anim Sci*, 1989, 67: 3360-3369.
- 兰旅涛, 徐清华, 张华, 等. 饲料中添加叶酸对乐平母猪繁殖性能的影响. *江西农业学报*, 1997, 7: 16-21.
- 闻爱友, 胡志泽, 庞训胜, 等. 母猪日粮添加不同水平叶酸的饲喂效果试验. *粮食与饲料工业*, 2002, (12): 27-28.
- Harper AF, Lindemann MD, Chiba LI, et al. An assessment of dietary folic acid levels during gestation and lactation on reproductive and lactational performance of sows: a cooperative study. S-145 Committee on Nutritional Systems for Swine to Increase Reproductive Efficiency. *J Anim Sci*, 1994, 72: 2338-2344.
- Umstad MP, Gronow MJ. Multiple pregnancy: a modern epidemic? *Med J Aust*, 2003, 178: 613-615.

(收稿日期: 2005-08-11)

(本文编辑: 尹康)