

LA PREVENZIONE PRIMARIA DELLE MALFORMAZIONI CONGENITE CON ACIDO FOLICO

Giuseppe Masnata

S.S.Urologia e Urodinamica Pediatrica – S.C di Pediatria

Az. Osp. “G. Brotzu” – Cagliari

giuseppemasnata@aob.it

INTRODUZIONE

Secondo i dati del Registro Sardo sulle Malformazioni Congenite, ogni anno nascono in Sardegna circa 600 bambini affetti da difetti congeniti di varia entità. Le malformazioni congenite ma soprattutto la spina bifida, hanno un’alta incidenza nella nostra Regione.

Il 5% di questi bambini muore nel primo anno di vita.

Il 30% vivrà, ma con gravi disabilità fisiche e/o psichiche permanenti.

Tutti gli altri avranno bisogno d’interventi medici e/o chirurgici e di frequenti ricoveri in ospedale nell’arco dell’intera vita.

La prevenzione primaria attuata con una semplice vitamina del gruppo B, l’acido folico, potrebbe ridurre del 50% queste malformazioni.

L’acido folico, oltre a prevenire le malformazioni congenite, riduce in modo rilevante, diminuendo i livelli d’omocisteina plasmatica, il rischio di arteriosclerosi, infarto, ictus e tumori.

E’ quindi necessario promuovere un’informazione mirata rivolta a tutti i cittadini sardi sugli effetti protettivi dell’acido folico, non solo per quanto riguarda le malformazioni fetali, ma anche per una serie di patologie ad alta rilevanza sociale la cui incidenza aumenta con il trascorrere degli anni.

Da rimarcare che la nostra regione possiede delle peculiarità, come la condizione di insularità e l’omogeneità del genoma, che recano notevoli vantaggi nella valutazione dell’efficacia di una campagna di prevenzione primaria.

Gli interventi di prevenzione primaria rappresentano lo strumento più potente per promuovere la salute dell'uomo e una parte considerevole di questi si basa sull'informazione sanitaria.

Anche il Piano Sanitario Nazionale 1998-2000, rivolge una particolare attenzione alla valutazione dei messaggi trasmessi dai mass media e al coinvolgimento dei medici in programmi di promozione della salute di provata efficacia.

Il nostro obiettivo è dunque quello di sviluppare una campagna di informazione ed educazione sanitaria rivolta alla popolazione ed agli operatori sanitari sardi volta a promuovere interventi di prevenzione primaria nel campo della salute.

LE MALFORMAZIONI CONGENITE

Le Malformazioni Congenite sono alterazioni della forma e della struttura del corpo umano presenti alla nascita ed originatesi durante la vita intrauterina. Nel loro insieme le malformazioni congenite colpiscono il 3-5% di tutti i nati. Questa sale all'8-10% se si valutano i difetti congeniti diagnosticati nei primi 10 anni, età entro la quale si manifesta la maggior parte delle anomalie.

Rappresentano nei paesi sviluppati la prima causa di morte nel primo anno di vita essendo responsabili del 30-50% di tali decessi.

Attualmente le MC sono responsabili di circa il 25% della natimortalità e del 45% della mortalità perinatale.

Da un punto di vista eziopatogenetico, i difetti congeniti possono essere "genetici" o "non genetici", ma per la maggioranza di essi la causa è determinata da complesse interazioni tra genetica e ambiente.

In epoca prenatale è oggi diagnosticata una quota di casi assai rilevante (con un impatto particolare su alcune patologie specifiche come i difetti del tubo neurale, le uropatie malformative, le cardiopatie congenite, la sindrome di Down).

LA SPINA BIFIDA

In Italia l'incidenza tra i nati vivi è intorno allo 0.5‰ e si stima un'incidenza fetale attorno all'1‰. In Sardegna si rileva un dato leggermente superiore alla media italiana. Su circa 12.000 nati in Sardegna ogni anno, 1 nato su 1000 è affetto da spina bifida. Nonostante gli interventi neurochirurgici riparativi, nella stragrande maggioranza dei casi il danno al midollo spinale causa paralisi dello sfintere vescicale e degli arti inferiori. Una disabilità complessa e permanente, che richiede un'assistenza polispecialistica integrata continua.

Il costo dell'assistenza ad ogni bambino con spina bifida è di circa 300.000 €.

La spina bifida è tra le più frequenti anomalie congenite ad eziopatogenesi multifattoriale. Con tale termine si indica un gruppo eterogeneo di malformazioni del sistema nervoso centrale, secondarie ad un'anomala chiusura del tubo neurale durante la quarta settimana di sviluppo embrionale. La sintomatologia è molto variabile e comprende la paralisi degli arti inferiori, l'incontinenza e la deformità dei piedi. Possono associarsi idrocefalo, ritardo mentale e infezioni cerebrali. Donne con anamnesi positiva per precedente feto affetto presentano un rischio di ricorrenza dieci volte superiore rispetto alla popolazione generale.

La spina bifida è circa cinque volte più frequente nelle donne affette da diabete insulino-dipendente. Inoltre il rischio di tali anomalie è aumentato tra le donne obese.

LA PREVENZIONE PRIMARIA CON ACIDO FOLICO

a) SPINA BIFIDA

Le cause che provocano la spina bifida sono in gran parte ancora sconosciute. Tra le cause ambientali sembra che un importante fattore di rischio sia rappresentato dalla dieta materna povera di vitamine ed in particolare di ACIDO FOLICO.

Negli ultimi dieci anni numerosi studi hanno dimostrato la possibilità di ridurre l'incidenza della spina bifida attraverso supplementi d'acido folico nel periodo preconcezionale.

La gravidanza è la condizione fisiologica nella quale più frequentemente si instaura una carenza di folati, secondaria a carenze dietetiche (disturbi digestivi, iperemesi, alimentazione non corretta), ad aumentato fabbisogno (per accelerata eritropoiesi materna e per soddisfare le richieste fetali) e ad accelerato catabolismo dei folati.

In generale l'effetto preventivo dei folati è probabilmente legato a diversi fattori che sembrano comunque in relazione a due meccanismi fondamentali: la correzione di una carenza assoluta o relativa e/o il superamento di un blocco metabolico presente in una delle numerose reazioni folato-dipendenti.

Tutti gli studi hanno riportato una riduzione del 50-70 per cento dell'incidenza di spina bifida nei figli di donne trattate con 400 mcg di acido folico da 2-3 mesi prima del concepimento fino a 2-3 mesi dopo.

A seguito della scoperta che l'acido folico può ridurre i difetti del tubo neurale diversi paesi si sono posti il problema di come promuoverne l'uso. L'approccio USA (supplementazione negli alimenti base) costituisce un'efficace strategia. In altri paesi come Gran Bretagna, Danimarca e Olanda sono stati intrapresi progetti di informazione e sensibilizzazione sull'importanza della supplementazione di routine periconcezionale.

Prima della fortificazione obbligatoria di alcuni cibi, attualmente in vigore negli USA, tuttavia, solo il 29% circa delle donne americane in età riproduttiva assumeva quotidianamente un supplemento contenente 400 µg di acido folico. La Food and Drug Administration USA ha autorizzato l'aggiunta di acido folico ai prodotti a base di cereali arricchiti con vitamine nel marzo del 1996, e la supplementazione è diventata obbligatoria a partire dal gennaio 1998.

In studi controllati, la supplementazione con acido folico prima del concepimento e durante il primo trimestre di gravidanza si è dimostrata in grado di ridurre il rischio di spina bifida di oltre il 70% in donne con una storia precedente di nascita di un neonato affetto da questa patologia. In un altro studio randomizzato, la supplementazione ha addirittura azzerato il rischio di questa patologia.

Ove si consideri che la supplementazione con acido folico incide favorevolmente anche sulle arteropatie ostruttive (infarto e ictus), tramite l'effetto dell'acido folico stesso sull'omocisteina, si può concludere che probabilmente questa strategia dovrebbe essere estesa anche al nostro Paese.

b) ALTRE MALFORMAZIONI

Le ultime ricerche sulla relazione tra assunzione d'acido folico nel periodo preconcezionale e malformazioni, indicano un effetto protettivo del 30-50 per cento anche per altre malformazioni: la labio palatoschisi, varie cardiopatie congenite, le uropatie malformative e le agenesie degli arti.

c) PREVENZIONE INFARTO, ICTUS E TUMORI

Un aumentato consumo d'acido folico in tutta la popolazione, riduce i livelli d'omocisteina plasmatica, ritenuta ormai un fattore di rischio rilevante per le vasculopatie occlusive dell'adulto (che determinano infarto e ictus). L'omocisteina è un aminoacido che determina un danno diretto dell'endotelio dei vasi arteriosi. L'acido folico trasforma l'omocisteina in metionina, altro aminoacido utile però al nostro metabolismo.

Un deficit di acido folico contribuisce ad aumentare le concentrazioni plasmatiche di omocisteina, una condizione che può associarsi ad un aumentato rischio di malattie cardiovascolari (*JAMA 1995;274:1049-57*).

L'apporto di acido folico con la dieta sembra essere il fattore più importante nel determinare i livelli plasmatici di omocisteina.

Lo studio VISP (Vitamin Intervention for Stroke Prevention) [da: NINDS National Institute of Neurological Disorders and Stroke - US] valuta la capacità di un supplemento multivitaminico con alte dosi di acido folico e di due vitamine del gruppo B (B6 e B12), di prevenire l'ictus. Nei pazienti colpiti da ictus sono comunemente evidenziati, nella fase acuta, elevati livelli ematici di

omocisteina. Alcuni ricercatori ipotizzano che questa sostanza rivesta un ruolo importante nel causare l'ictus.

In uno studio recente (*Arch Intern Med* 2001;161:695-700) alcuni ricercatori inglesi hanno valutato contro placebo l'effetto esercitato da un supplemento di acido folico (a 5 diversi dosaggi, da 0,2 a 1 mg/die), sui livelli plasmatici di omocisteina in 150 pazienti cardiopatici.

Infine, abbassando i livelli plasmatici di omocisteina si riduce l'incidenza di restenosi dopo angioplastica coronarica percutanea (*New England Journal of Medicine* N 22 Vol 345:1593-1600 Nov 29, 2001).

Recenti ricerche dimostrano inoltre l'importanza dell'assunzione di acido folico nella prevenzione di: tumori, complicanze del diabete, Alzheimer.

L'assunzione quotidiana di complessi vitaminici contenenti acido folico può ridurre i rischi di tumore del colon nelle persone con una storia familiare di questo tipo di cancro (*Cancer epidemiology-Biomarkers and Prevention*).

RACCOMANDAZIONI DA PARTE DI ALTRI GRUPPI

L'American Academy of Pediatric (AAP), la Canadian Task Force, e l'U.S. Public Health Service (USPHS) raccomandano per tutte le donne in età fertile con possibilità di gravidanza l'assunzione di 0,4 mg di acido folico al giorno allo scopo di evitare una gravidanza con difetti del tubo neurale.

L'AAP, la Canadian Task Force, l'ACOG, e l'USPHS raccomandano di offrire alle donne con precedente gravidanza affetta, una terapia con 4 mg al giorno di acido folico a partire da 1-3 mesi prima del concepimento pianificato e durante il primo trimestre di gravidanza.

ASPETTI SOCIALI

Le Malformazioni Congenite rappresentano un problema di salute pubblica di importanza rilevante, con un considerevole impatto sociale sia in termini economici sia di sofferenza umana.

Rappresentano malattie a carattere sociale verso le quali devono tendere gli sforzi organizzativo-sanitari secondo due direttive principali: prevenzione e trattamento.

LA SITUAZIONE ITALIANA

Malgrado tali evidenze in Italia non si è sviluppata alcuna strategia a livello nazionale indirizzata a sostenere e mantenere nel tempo campagne di prevenzione primaria per la supplementazione periconcezionale di folati. Dati relativi a più di mille donne che avevano partorito nati sani a termine tra il 1994 e il 1997, intervistate come controlli all'interno di studi epidemiologici,

mostravano come la quota di donne che dichiarava di aver usato supplementi multivitaminici in gravidanza fosse intorno al 6%.

A fronte di una minima applicazione nella pratica clinica delle raccomandazioni internazionali, nel mercato italiano si assiste inoltre alla disponibilità di multivitaminici e/o supplementi nutrizionali contenenti nella maggior parte dei casi dosaggi di acido folico insufficienti per la prevenzione primaria (0.1 - 0.3mg) e alla presenza di più di 25 formulazioni di acido folico contenenti fino a 15mg del preparato, diffusamente promosse tra i ginecologi dall'industria. Questo naturalmente solleva alcune preoccupazioni rispetto ai costi e alla sicurezza di dosaggi inutilmente elevati di acido folico in età riproduttiva e in gravidanza.

L'evidenza scientifica non sembra quindi aver modificato l'attitudine delle donne italiane alla supplementazione periconcezionale con acido folico. È probabile che, anche se una parte delle donne italiane assume supplementi contenenti acido folico, la maggior parte di loro non inizi prima del concepimento ma solo successivamente, per lo più dopo la quinta settimana di gravidanza, con scarso o nullo effetto protettivo. In più, la supplementazione di folati alle dosi opportune non sembra venga somministrata in maniera adeguata neppure alle coppie a rischio per anamnesi positiva di malformazioni.

L'ACIDO FOLICO (Vitamina B 9)

L'acido folico, o vitamina B9 (nome chimico: acido pteroilglutammico), è una sostanza che interviene nelle reazioni metaboliche della crescita e della moltiplicazione cellulare. Il termine "folati" viene utilizzato per definire tutti i membri della stessa famiglia di composti in cui l'acido pterico è legato a una o più molecole di L-glutammato.

E' utilissimo per i tessuti caratterizzati da una crescita attiva e da un ricambio elevato. L'acido folico non è prodotto dal nostro organismo e quindi deve essere assunto con gli alimenti.

L'acido folico si trova in un'ampia varietà di alimenti: nelle verdure a foglia verde, barbabietole e lattuga, spinaci, asparagi, broccoli, carote, pomodori, fagioli, agrumi, banane, datteri, meloni, legumi, fegato, lievito, latte e cereali. La cottura dei cibi ne distrugge circa il 60%.

In gravidanza, quando il feto attinge dalle riserve materne per il suo sviluppo, il fabbisogno giornaliero aumenta fino a 0.4 mcg. La maggior parte dei folati alimentari esiste sotto forma di poliglutammati che vengono trasformati nella parete dell'intestino tenue in forma di monoglutammati prima di essere assorbiti per passare in circolo. Solo la metà circa dei folati ingeriti viene assorbita. Nell'uomo, in condizioni normali, i folati sintetizzati dai batteri intestinali non contribuiscono in modo significativo alla fornitura di vitamina in quanto la sintesi

batterica di folati è abitualmente limitata al colon, mentre l'assorbimento ha luogo soprattutto nella parte superiore dell'intestino tenue.

I folati agiscono come cofattori di enzimi coinvolti nella sintesi del DNA e RNA e, insieme alla vitamina B12, sono coinvolti nella donazione di gruppi metilici nel ciclo della metilazione. L'acido folico assume funzione coenzimatica dopo essere stato ridotto ad acido tetraidrofolico, che è la forma attiva di folato nell'organismo, in grado di trasportare e donare unità monocarboniose. L'acido tetraidrofolico agisce come coenzima in numerose reazioni metaboliche essenziali, svolgendo un ruolo importante nel metabolismo degli aminoacidi e nella sintesi degli acidi nucleici, nonché nella formazione delle cellule del sangue e di alcuni costituenti del tessuto nervoso. Da esso originano i coenzimi folici, che sono fra loro interconvertibili e che costituiscono quindi un fattore chiave in almeno due processi biologici importanti: la biosintesi delle basi puriniche e pirimidiniche e il ciclo della metilazione. In carenza di folati può dunque verificarsi un accumulo di omocisteina per mancanza diretta o indiretta di metiltetraidrofolato.

L'acido folico è ampiamente distribuito nei tessuti, soprattutto sotto forma di derivati poliglutammati. Il principale organo di riserva è il fegato che contiene circa la metà delle riserve dell'organismo. Si stima che la reale quantità di folati immagazzinati nell'organismo sia dell'ordine di 7,5 mg nel maschio adulto sano, anche se sono stati individuati quantitativi superiori a questo nel solo fegato. I livelli plasmatici normali sono di 5-20 µg/litro e gli eritrociti ne contengono circa trenta volte di più. L'escrezione giornaliera di folati, soprattutto per via urinaria, è normalmente inferiore all'1% delle riserve dell'organismo.

La maggior parte dei folati presenti negli alimenti è instabile. Le verdure fresche in foglia conservate a temperatura ambiente, possono perdere fino al 70% del loro contenuto di folati in tre giorni. Perdite considerevoli si verificano anche per diluizione nell'acqua di cottura (fino al 95%) e per esposizione al calore. Alcune abitudini alimentari oramai diffuse quali l'assunzione sempre crescente di cibi congelati e la cottura contribuiscono quindi alla riduzione del contenuto di acido folico nei cibi.

L'acido folico di sintesi prodotto dall'industria farmaceutica è un composto stabile, di basso costo, adatto anche alla supplementazione dei cibi. Il costo finale al dettaglio è perciò sostenuto soprattutto dal confezionamento, distribuzione e marketing del prodotto.

STATI CARENZIALI

La carenza di folati è uno dei deficit vitaminici più comuni. Esso può essere conseguenza di inadeguata assunzione, alterato assorbimento, alterato metabolismo o aumentate richieste. Un grave deficit di folati porta, entro breve tempo, alla comparsa di anemia megaloblastica, una condizione caratterizzata dalla produzione di eritrociti giganti, immaturi da parte del midollo osseo. I sintomi clinici sono variabili e correlati alla gravità dell'anemia.

Il deficit nutrizionale di folati si incontra soprattutto nelle fasce di popolazione economicamente più svantaggiate. Una ridotta assunzione di folati viene anche spesso osservata in soggetti che si sottopongono a diete particolari, come ad esempio diete dimagranti. Disturbi gastrici (gastrite atrofica) e dell'intestino tenue (morbo celiaco, sprue, morbo di Crohn) possono determinare un deficit di folati come risultato di un malassorbimento. Le richieste di folati aumentano in condizioni in cui si ha un elevato turnover cellulare. Questo è anche il caso della gravidanza e dell'allattamento, a causa di una rapida crescita tissutale in gravidanza e alle perdite che si verificano durante l'allattamento.

Non bisogna inoltre dimenticare che soggetti in trattamento farmacologico per condizioni quali l'epilessia o infezioni sono anch'essi a rischio di deficit di folati.

EFFETTI COLLATERALI DELL'ACIDO FOLICO

Gli effetti collaterali dell'uso di acido folico sono irrilevanti.

Nell'eventualità di una prevenzione basata sulla fortificazione dei cibi (come in USA), si limitano alla comparsa di un certo numero di casi di anemia perniziosa non diagnosticata, specie tra gli anziani (l'acido folico tende a mascherare l'anemia ed il quadro clinico della carenza di vitamina B12).

CONSIDERAZIONI DI FATTIBILITA' SULLA PREVENZIONE PRIMARIA CON ACIDO FOLICO

(Traduzione dei dati scientifici in raccomandazioni cliniche pratiche)

Le raccomandazioni a favore o contro un intervento di prevenzione possono essere influenzate da molteplici fattori, tra i quali le evidenze scientifiche disponibili circa l'efficacia, le dimensioni del problema, i costi e le preoccupazioni di politica sanitaria.

Per molti interventi di prevenzione (così come per molti interventi della pratica clinica) non vi sono evidenze sufficienti a conferma dell'efficacia o dell'inefficacia dell'intervento nel migliorare l'esito clinico.

Nella pratica clinica e nella politica sanitaria, tuttavia, spesso vanno presi in considerazione altri fattori, oltre a quelli scientifici, per decidere come procedere in assenza di dati certi.

Può essere del tutto appropriato, invece, attuare interventi di prevenzione fondamentalmente innocui se essi possono con ragionevole probabilità essere d'aiuto al paziente (come per esempio gli interventi di informazione e educazione del paziente).

Considerazioni analoghe valgono anche per i costi.

Le dimensioni del problema posto dalla patologia in esame possono giustificare il ricorso a interventi di prevenzione anche in assenza di dati a sostegno e considerazioni analoghe valgono anche per i singoli pazienti con diverso rischio individuale.

Pertanto, anche interventi di prevenzione considerati non appropriati per la popolazione generale, possono essere indicati per individui ad aumentato rischio per una determinata patologia.

Le preferenze del paziente, importanti in tutte le decisioni cliniche, risultano decisive nei casi in cui ci si propone di attuare interventi di prevenzione di non provata efficacia.

E' responsabilità del medico fornire al paziente le più valide informazioni disponibili circa i potenziali danni e benefici dell'intervento di prevenzione e illustrare ciò che è noto e ciò che non lo è sul probabile esito clinico. I pazienti possono quindi prendere decisioni fondate su quale opzione è appropriata a seconda dell'importanza relativa che essi attribuiscono all'esito clinico.

BIBLIOGRAFIA

1. DPR 23 luglio 1998, Approvazione del Piano sanitario nazionale per il triennio 1998-2000
2. Smithells RW, Nevin NC, Seller MJ, Sheppard S, Read AP, Fielding DI, et al. Further experience of vitamin supplementation for prevention of neural tube defect recurrences. *Lancet* 1983; i: 127-131
3. MRC Vitamin Study Research Group. Prevention of neural tube defects: results of the Medical Research Council vitamin study. *Lancet* 1991; 338: 131-137
4. Czeizel AE, Dudas I. Prevention of the first occurrence or neural-tube defects by periconceptional vitamin supplementation. *N Engl J Med* 1992; 327: 1832-1835
5. Hall JG, Solhedin F. Folate and its ramifications *Advances in Pediatrics* 1998; 45: 1-35
6. Department of Health. *Folic acid and the prevention of disease*. London: Stationery Office, 2000:1-101
7. US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. Food standards: amendment of the standards of identity for enriched grain products to require addition of folic acid. *Fed Reg* 1993; 58: 53306-53312.
8. Wharton BA, Darke SJ. Infantile hypercalcaemia. In: Jelliffe EFP, Jelliffe DB, eds. *Adverse effects of foods*. New York: Plenum, 1982:397-404.
9. McPhail AP, Bothwell TH. Fortification of the diet as strategy for prevention of iron deficiency. *Acta Paediatr* 1989; 361(suppl): 114-124
10. Jaques PF, Selhub J, Bostom AG, Wilson PWF, Rosenberg IH. The effect of folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations. *N Engl J Med* 1999; 340: 1449-1454
11. Honein MA, Paulozzi LJ, Mathews TJ, Erickson JD, Lee-Yang C W. Impact of folic acid fortification of the US food supply on the occurrence of neural tube defects. *JAMA* 2001; 285: 2981-2986
12. Mills JL, England L. Food fortification to prevent neural tube defects. Is it working? *JAMA* 2001; 285: 3022-3023
13. Mills JL. Fortification of foods with folic acid: how much is enough? *N Engl J Med* 2000; 342: 1442-1445
14. Lumley J, Watson L, Watson M, Bower C. Periconceptional supplementation with folate and/or multivitamins for preventing neural tube defects. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; 2: CD001056
15. Botting B. *The health of our children*. London: HMSO, 1995:148-158. (DS No 11.)
16. Rosenquist TH, Ratashak SA, Selhub J. Homocysteine induces congenital defects of the heart and neural tube: effect of folic acid. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996 Dec 24;93(26):15227-32
17. Alberto Mantovani, Anna Velia Stazi and Domenica Taruscio 2002, 67 p. Rapporti ISTISAN 02/26 Hoffman HJ. Spinal dysraphism. *Am Fam Physician* 1987;36:129-136.
18. Hibbard ED, Smithells RW. Folic acid metabolism and human embryopathy. *Lancet* 1968; i: 1254
19. Waitzman NJ, Romano PS, Scheffler RM. Estimates of the economic costs of birth defects. *Inquiry* 1994; 31:188-205
20. Flood T, Brewster M, Harris J, et al. Spina bifida incidence at birth_United States, 1983-1990. *MMWR* 1992;41: 497-500
21. Windham GC, Edmonds LD. Current trends in the incidence of neural tube defects. *Pediatrics* 1982;70:333-337
22. Hall JG, Solhedin F. Folate and its ramifications *Advances in Pediatrics* 1998; 45: 1-35
23. Botting B. *The health of our children*. London: HMSO, 1995:148-158. (DS No 11.)
24. Rosenquist TH, Ratashak SA, Selhub J. Homocysteine induces congenital defects of the heart and neural tube: effect of folic acid. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996 Dec 24;93(26):15227-32
25. Alberto Mantovani, Anna Velia Stazi and Domenica Taruscio 2002, 67 p. Rapporti ISTISAN 02/26
26. Hibbard ED, Smithells RW. Folic acid metabolism and human embryopathy. *Lancet* 1968; i: 1254
27. Waitzman NJ, Romano PS, Scheffler RM. Estimates of the economic costs of birth defects. *Inquiry* 1994; 31:188-205
28. Flood T, Brewster M, Harris J, et al. Spina bifida incidence at birth_United States, 1983-1990. *MMWR* 1992;41: 497-500
29. Windham GC, Edmonds LD. Current trends in the incidence of neural tube defects. *Pediatrics* 1982;70:333-337
30. Ventura SJ, Martin JA, Taffel SM, et al. Advance report of final natality statistics, 1992. Monthly vital statistics report; vol 43, no 5 (suppl). Hyattsville, MD: National Center for Health Statistics, 1994
31. Cragan JD, Roberts HE, Edmonds LD, et al. Surveillance for anencephaly and spina bifida and the impact of prenatal diagnosis---United States, 1985-1994. *MMWR* 1995;44(SS-4):1- 13.
32. Smithells RW, Seller MJ, Harris R, et al. Further experience of vitamin supplementation for prevention of neural tube defect recurrences. *Lancet* 1983;1:1027-1031.
33. Vergel RG, Sanchez LR, Heredero BL, et al. Primary prevention of neural tube defects with folic acid supplementation: Cuban experience. *Prenat Diagn* 1990;10:149-152.

34. Kirke PN, Daly LE, Elwood JH, et al. A randomised trial of low dose folic acid to prevent neural tube defects. *Arch Dis Child* 1992;67:1442-1446.
35. Bower C, Stanley FJ. Dietary folate as a risk factor for neural tube defects: evidence from a case-control study in Western Australia. *Med J Aust* 1989;150:613-619.
36. Werler MM, Shapiro S, Mitchel AA. Periconceptional folic acid exposure and risk of occurrence of neural tube defects. *JAMA* 1993;269:1257-1261.
37. Mulinare J, Cordero JF, Erickson JD, et al. Periconceptional use of multivitamins and the occurrence of neural tube defects. *JAMA* 1988;260:3141-3145.
38. Mills JL, Rhoads GG, Simpson JL, et al. The absence of a relation between the periconceptional use of vitamins and neural-tube defects. *N Engl J Med* 1989;321:430-435.
39. Milunsky A, Jick H, Jick SS, et al. Multivitamin/folic acid supplementation in early pregnancy reduces the prevalence of neural tube defects. *JAMA* 1989;262:2847-2852.
40. 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.
41. Czeizel AE. Prevention of congenital abnormalities by periconceptional multivitamin supplementation. *BMJ* 1993; 306:1645-1648.
42. Subar AF, Block G, James LD. Folate intake and food sources in the US population. *Am J Clin Nutr* 1989;50: 508-516.
43. Davidson LSP, Girdwood RH. Folic acid as therapeutic agent. *BMJ* 1947;1:587-591.
44. Hansen HA, Weinfeld A. Metabolic effects and diagnostic value of small dosages of folic acid and B12 in megaloblastic anemias. *Acta Med Scand* 1962;172:427-443.
45. Ross FJ, Belding H, Paegel BL. The development and progression of subacute combined degeneration of the spinal cord in patients with pernicious anaemia treated with synthetic pteroylglutamic (folic) acid. *Blood* 1948;3:68-90.
46. Allen RH, Stabler SP, Savage DG, et al. Diagnosis of cobalamin deficiency I: Usefulness of serum methylmalonic acid and total homocysteine concentrations. *Am J Hematol* 1990;34:90- 98.
47. Cooper BA, Abe T. Variable response of bone marrow to feeding DL-5-formyltetrahydrofolate in pernicious anemia. *Br J Haematol* 1976;32:387-394.
48. Victor M, Lear AA. Subacute combined degeneration of the spinal cord. *Am J Med* 1956;20:896-911.
49. Baldwin JN, Dalessio DJ. Folic acid therapy and spinal-cord degeneration in pernicious anemia. *N Engl J Med* 1961;264:1339-1342.
50. Vilter RW, Will JJ, Wright T, et al. Interrelationships of vitamin B12, folic acid, and ascorbic acid in the megaloblastic anemias. *Am J Clin Nutr* 1963;12:130-144.
51. Marshall RA, Jandl JH. Response to "physiologic" doses of folic acid in the megaloblastic anemias. *Arch Intern Med* 1960;105:352-360.
52. Wald NJ, Bower C. Folic acid, pernicious anaemia, and prevention of neural tube defects [commentary]. *Lancet* 1994;343:307.
53. Kirke PN, Molloy AM, Daly LE, et al. Maternal plasma folate and vitamin B12 are independent risk factors for neural tube defects. *Q J Med* 1993;86:703-708.
54. Mills JL, McPartlin JM, Kirke PN, et al. Homocysteine metabolism in pregnancies complicated by neural-tube defects. *Lancet* 1995;345:149-151.
55. Simmer K, Iles CA, James C, et al. Are iron-folate supplements harmful? *Am J Clin Nutr* 1987;45: 122-125.
56. Butterworth CE Jr, Hatch K, Cole P, et al. Zinc concentration in plasma and erythrocytes of subjects receiving folic acid supplementation. *Am J Clin Nutr* 1988;47:488- 486.
57. Mukherjee MD, Sandstead HH, Ratnaparkhi MV, et al. Maternal zinc, iron, folic acid, and protein nutrition and outcome of pregnancy. *Am J Clin Nutr* 1984;40:496-507.
58. Butterworth CE Jr, Tamura T. Folic acid safety and toxicity: a brief review. *Am J Clin Nutr* 1989;50: 353-358.
59. Czeizel AE, Dobo M. Postnatal somatic and mental development after periconceptional multivitamin supplementation. *Arch Dis Child* 1994;70:229-233.
60. Holmes-Siedle M, Dennis J, Lindenbaum RH, et al. Long term effects of periconceptional multivitamin supplements for prevention of neural tube defects: a seven to 10 year follow up. *Arch Dis Child* 1992;67:1436-1441.
61. American Society of Human Genetics. Policy statement for maternal serum alpha-fetoprotein screening programs and quality control for laboratories performing maternal serum and amniotic fluid alpha-fetoprotein assays. *Am J Hum Genet* 1987;40:75-82.
62. Garver KL. Update on MSAFP policy statement from the American Society of Human Genetics. *Am J Hum Genet* 1989;45:332-334.

63. American Academy of Pediatrics, Committee on Genetics. Maternal serum a-fetoprotein screening. *Pediatrics* 1991;88:1282-1283.
64. Canadian Task Force on the Periodic Health Examination. Canadian guide to clinical preventive health care. Ottawa: Canada Communication Group, 1994:74-81.
65. American Academy of Pediatrics and American College of Obstetricians and Gynecologists. Antepartum and intrapartum care. In: Freeman RK, Poland RL. Guidelines for perinatal care. 3rd ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics and Washington, DC: American College of Obstetricians and Gynecologists, 1992:49-90.
66. American Academy of Pediatrics. Folic acid for the prevention of neural tube defects. *Pediatrics* 1993;92:493-494
67. Wald NJ, Watt HC, Law MR, et al. Homocysteine and Ischemic heart disease. Results of prospective study with implications regarding prevention. *Arch Intern Med.* 1998 Apr 27;158:862-7.
68. 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* 1992;41(RR-14):1-7.
69. American College of Obstetricians and Gynecologists. Folic acid for the prevention of recurrent neural tube defects. Committee Opinion no. 120. Washington, DC: American College of Obstetricians and Gynecologists, 1993.
70. Centers for Disease Control. Use of folic acid for prevention of spina bifida and other neural tube defects_1983-1991. *MMWR* 1991;40:513-516.
71. Thornton JG, Lilford RJ, Howell D. Safety of amniocentesis. *Lancet* 1986;2:225- 226.
72. National Center for Health Statistics. Healthy people 2000 review, 1992. Hyattsville, MD: Public Health Service, 1993:42.
73. Food and Drug Administration. Food standards: amendment to the standards of identity for enriched grain products to require addition of folic acid. *Fed Reg* 1993;58:53305-53312.
74. Food and Drug Administration. Food additives permitted for direct addition to food for human consumption: folic acid (folacin). *Fed Reg* 1993;58:53312-53317.
75. Food and Drug Administration. Food labeling: health claims and label statements; folate and neural tube defects. *Fed Reg* 1993;58:53254-53295.
76. Willett WC. Folic acid and neural tube defect: can't we come to closure? *Am J Public Health* 1992; 82:666-668.
77. Report from an Expert Advisory Group. Folic acid and the prevention of neural tube defects. London: Department of Health, 1992
78. Bortolus R. L'uso periconcezionale dell'acido folico nella prevenzione dei difetti del tubo neurale. *Alimentazione & Prevenzione* 2001;1:115-119
79. Honein MA, Paulozzi LJ, Mathews TJ, Erickson JD, Wong LC. Impact of Folic Acid Fortification of the US Food Supply on the Occurrence of Neural Tube Defects. *JAMA* 2001;285:2981-2986
80. Mills JL, England L. Food Fortification to Prevent Neural Tube Defects. Is It Working?. *JAMA* 2001;285:3022-3
81. Mastroiacovo P. et al. Difetti congeniti e sindromi malformative. McGraw-Hill Libri Italia srl - Milano, 1990
82. Werler MM, Louik C, Shapiro S, Mitchell AA. Prepregnant weight in relation to risk of neural tube defects. *JAMA* 1996; 275: 1089-92
83. Wild J, Seller MJ, Schorah CJ, Smithells RW. Investigation of folate intake and metabolism in women who have had two pregnancies complicated by neural tube defects. *Br J Obstet Gynaecol* 1994; 101: 197-202
84. Wenstrom KD, Johanning GL, Owen J, Johnston KE, Acton S, Tamura T. Role of amniotic fluid homocysteine level and of fetal 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase genotype in the etiology of neural tube defects. *Am J Med Genet* 2000; 90 (1):12-6
85. Wenstrom KD, Johanning GL, Owen J, Johnston KE, Acton S, Cliver S, Tamura T. Amniotic fluid homocysteine levels 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase genotypes and neural tube closure sites. *Am J Med Genet* 2000; 90 (1): 6-11
86. Shaw GM, Rozen R, Finnel RH, Wasserman CR, Lammer EJ. Maternal vitamin use, genetic variation of infant methylenetetrahydrofolate reductase, and risk for spina bifida. *Am J Epidemiol* 1998; 148: 30-7
87. Botto LD, Mulinare J. Re: Maternal vitamin use, genetic variation of infant methylenetetrahydrofolate reductase, and risk for spina bifida. (letter). *Am J Epidemiol* 1999; 150: 323-4
88. Walker MC, Smith GN, Perkins SL, Keely EJ, Garner PR. Changes in homocysteine levels during normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180: 660-4
89. Mills JL, McPartlin JM, Kirke PN, et al. Homocysteine metabolism in pregnancies complicated by neural-tube defects. *Lancet* 1995; 345: 149-51
90. Bjorke-Monsen AL, Ueland PM, Schneede J, et al. Elevated plasma total homocysteine and C677T mutation of methylenetetrahydrofolate reductase gene in patients with spina bifida. *QJM* 1997; 90: 593-6

91. Expert Advisory Group. Folic Acid and the Prevention of Neural Tube Defects. London, England: Department of Health, 1992
92. 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 Morb Mortal Wkly Rep.* 1992; 41: 1-7
93. Brown JE, Jacobs DR, Hartman TJ, et al. Predictors of red cell folate level in women attempting pregnancy. *JAMA* 1997; 277: 548-52
94. De Bree A, Van Dusseldorp M, Brouwer IA, et al. Folate intake in Europe: recommended, actual and desired intake. *Eur. J. Clin. Nutr.* 1997; 51: 643-60
95. Federal Register. March 5, 1996; 611: 8781
96. Daly LE, Kirke PN, Molloy A, Weir DG, Scott JM. Folate levels and neural tube defects. Implications for prevention. *JAMA* 1995; 274: 1698-702
97. Lumley J, Watson L, Watson M, Bower C. Periconceptional supplementation with folate and/or multivitamins to prevent neural tube defects (Cochrane Review). In: *The Cochrane Library*, Issue 4, 1998. Oxford: Update Software
98. Berry JR et al. Prevention of neural-tube defects with folic acid in China. *N Engl J Med* 1999; 341: 1485
99. Mastroiacovo P. L'acido folico supera la grande muraglia. *Occhio Clinico Pediatria* 2000; 1-2: 10-11
100. Botto LD, Mulinare J, Erickson JD. Occurrence of congenital heart defects in relation to maternal multivitamin use. *Am J Epidemiol* 2000; 151: 878-84
101. Werler MM, Hayes C, Louik C, Shapiro S, Mitchell AA. Multivitamin supplementation and risk of birth defects. *Am J Epidemiol* 1999; 150: 675-82
102. Bortolus R, Parazzini F, Addis A. Periconceptional folic acid supplements in Italy: evidence based clinical practice is possible? *eBMJ*, 28 Jan 2000
103. Holmes-Siedle M, Dennis J, Lindenbaum RH, Galliard A. Long term effects of periconceptional multivitamin supplements for prevention of neural tube defects: a seven to 10 year follow up. *Arch Dis Child* 1992; 67: 1436-41
104. Pepe F, Pepe P, Grillo S, Insolia G. Assunzione periconcezionale di acido folico in coppie siciliane a rischio di ricorrenza di DTN. *Minerva Ginecol* 1999; 51: s399-401