

## Acido folico

### Prove di efficacia e considerazioni utili per la riduzione del rischio di malformazioni congenite

#### Che cos'è l'acido folico

L'acido folico appartiene al gruppo delle vitamine B. I folati sono presenti in un'ampia varietà di alimenti. Le fonti più ricche sono rappresentate dal fegato, dalle verdure a foglia larga verde scuro (spinaci, cime di rapa, lattuga), dai fagioli, dal germe di grano e dal lievito. Altre fonti sono il tuorlo d'uovo, le barbabietole, il succo d'arancia e il pane integrale. Purtroppo, però, solo la metà circa dei folati ingeriti viene assorbita e la maggior parte di quelli 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. Nonostante tutto, comunque, la normale alimentazione (nelle popolazioni "ricche") copre usualmente il fabbisogno giornaliero di 0,2 mg<sup>1</sup> ([vedi nota a pie' di pagina](#)).

#### Come agisce

I folati agiscono come cofattori di enzimi coinvolti nella sintesi di DNA e RNA e, insieme alla vitamina B<sub>12</sub>, sono coinvolti 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. L'acido tetraidrofolico svolge un ruolo importante, come coenzima, 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 verificarsi un accumulo di omocisteina per mancanza diretta o indiretta di metiltetraidrofolato.

#### Utilizzo dell'acido folico

La carenza di folati è uno dei deficit vitaminici più comuni e può essere conseguente a inadeguata introduzione, aumentato fabbisogno, alterato assorbimento e metabolismo o assunzione di farmaci. Tale deficit, insieme a quello di vitamina B<sub>12</sub>, determina una difettosa sintesi di DNA nelle cellule che si dividono. Ciò spiega perché il sistema emopoietico è particolarmente sensibile alla carenza di questi micronutrienti. L'anomalia biochimica si traduce a livello cellulare in una disparità tra sintesi degli acidi ribonucleici e dell'emoglobina, che procede regolarmente, e sintesi del DNA, che è rallentata. Le cellule, che presentano pertanto una maturazione citoplasmatica normale e una nucleare alterata, assumono un aspetto megaloblastico e per la loro fragilità vanno spesso incontro a lisi intramidollare.

Nei paesi sviluppati, il deficit nutrizionale di folati si incontra soprattutto nei gruppi economicamente meno privilegiati, come ad esempio gli anziani. Una ridotta assunzione di folati viene spesso osservata anche in soggetti che assumono diete insufficienti o incongrue. Disturbi gastrici, come la gastrite atrofica, e dell'intestino tenue, come la celiachia o la malattia di Crohn, possono determinare un deficit di folati come risultato di un malassorbimento. Le richieste di folati aumentano inoltre in condizioni a elevato turnover cellulare, come in alcune forme di anemia o di affezioni dermatologiche. Questo è anche il caso della gravidanza, dell'allattamento e della prematurità, condizioni legate da un lato a una rapida crescita tissutale in gravidanza e alle perdite che si verificano con il latte, dall'altro alla presenza di riserve non completate e di un aumentato fabbisogno, tipici del neonato pretermine.

Nel corso degli anni sono stati segnalati stati carenziali di acido folico, spesso subclinici e asintomatici, in seguito a trattamento con farmaci di varia natura: in particolare con chemioterapici antitumorali, come il metotrexate, ma anche con anti-convulsivanti come la difenilidantoina e la carbamazepina, contraccettivi orali o chemioterapici antitubercolari.

## Dati di efficacia nella prevenzione delle malformazioni congenite

Negli anni '80 furono prodotti i primi trial osservazionali sull'efficacia dell'acido folico nella prevenzione primaria di **anencefalia** e **spina bifida** (denominati nel loro insieme "difetti del tubo neurale", DTN)<sup>2-4</sup>. Gli studi erano concentrati sulla ricorrenza dei DTN piuttosto che sull'occorrenza nella popolazione, per riuscire a ottenere un maggior numero di casi da analizzare con un minor numero di donne da studiare. Si ricorda, infatti, che l'incidenza nella popolazione (occorrenza) dei DTN è quantificabile intorno all' 1-2‰; quella nelle coppie che hanno già avuto una gravidanza affetta da DTN è del 2-3% (10-20 volte superiore).

Negli anni '90 sono state prodotte più convincenti prove di efficacia (trial clinici randomizzati, RCT) e vari studi osservazionali che sostengono la possibilità di prevenire anche altre malformazioni, in particolare alcune **cardiopatie (difetti interventricolari, tetralogia di Fallot, trasposizione dei grossi vasi), labio e/o palatoschisi, difetti del tratto urinario, ipo-agenesie degli arti, onfalocele e atresia anale**. Non solo, ma sia un RCT<sup>5</sup> sia uno studio caso-controllo<sup>6</sup> suggeriscono che la supplementazione con acido folico (più altre vitamine) durante il periodo periconcezionale possa ridurre il rischio di tutte le malformazioni nel loro insieme (tabella I).

Per i DTN, pressoché tutti gli studi clinici dal 1981 ad oggi riportano una riduzione sia del

**Tabella I** – Principali studi che dimostrano l'efficacia della supplementazione con acido folico nella prevenzione delle malformazioni congenite.

Autore, anno	Intervento	Tipo di studio, nazione	Risultato
<b>Difetti del tubo neurale</b>			
MRC, 1991 <sup>7</sup>	AF 4 mg	RCT; UK ed altri paesi <sup>o</sup>	Riduzione del 71% del rischio di ricorrenza di DTN
Czeizel et al., 1992 <sup>8</sup>	MV + AF 0,8 mg	RCT; Ungheria	Riduzione del 100% (minimo 40%) del rischio di occorrenza di DTN
Berry et al., 1999 <sup>9</sup>	AF 0,4 mg	Intervento su popolazioni; Cina	Riduzione di DTN nel Nord, del 79%, nel Sud del 41% <sup>^</sup>
Persad et al., 2002 <sup>10</sup>	Fortificazione alimentare: AF 0,15 mg per 100 gr di cereali	Correlazione ecologica; Nova Scotia, Canada	Riduzione di DTN del 54% tra prima e dopo la fortificazione
<b>Altre malformazioni</b>			
Botto et al., 2004 <sup>6</sup>	MV e/o AF vari dosaggi	Revisione di un RCT e di studi caso-controllo	Riduzione di cardiopatie congenite tra 34 e 58%
Botto et al., 2004 <sup>6</sup>	MV e/o AF vari dosaggi	Revisione di un RCT e di studi caso-controllo	Riduzione di ipo-agenesie degli arti tra 46 e 81%
Botto et al., 2004 <sup>6</sup>	MV e/o AF vari dosaggi	Revisione di un RCT, uno studio di coorte sulla ricorrenza, e di studi caso-controllo	Riduzione del 30%* di labiopalatoschisi e del 30%* di palatoschisi
Botto et al., 2004 <sup>6</sup>	MV + AF vari dosaggi	Revisione di due studi caso-controllo	Riduzione di difetti renali del 40 e 83% in due studi
<b>Malformazioni in generale</b>			
Czeizel et al., 1994 <sup>5</sup>	MV + AF 0,8 mg	RCT; Ungheria	Riduzione del 49% del rischio totale di malformazioni
Botto et al., 2004 <sup>6</sup>	MV + AF vari dosaggi	Caso-controllo, USA	Riduzione del 20% del rischio totale di malformazioni

Legenda: AF = Acido folico; DTN = difetti del tubo neurale; MV = multivitaminici contenenti almeno 0,4 mg di acido folico; RCT = trial clinico randomizzato.

<sup>o</sup> Studio effettuato su donne che avevano già avuto una gravidanza con DTN.

<sup>^</sup> Il tasso di incidenza di base in Cina del Nord era del 4,8 per mille, nel Sud dell'1,0 per mille.

\* Tasso mediano di 9 studi.

rischio di occorrenza sia del rischio di ricorrenza, grazie all'assunzione periconcezionale di acido folico. Nel loro complesso, i dati stimano una riduzione dei DTN pari ad almeno il 50-70%.

Oltre a queste dimostrazioni fornite dalla ricerca clinica, l'efficacia dell'acido folico è stata confermata da "interventi sul campo": lo studio di intervento su una coorte di popolazione, condotto in due zone della Cina, nel Nord a prevalenza elevata per DTN (4,8‰) e nel Sud a prevalenza bassa (1‰), che aveva come obiettivo la supplementazione con 0,4 mg di acido folico, e interventi di fortificazione alimentare condotti negli Stati Uniti<sup>10</sup>, Canada Nova Scotia<sup>11</sup>, Canada Ontario<sup>12</sup> e Cile<sup>13</sup>.

Lo studio condotto in Cina è particolarmente interessante poiché si è osservata una riduzione di DTN nelle popolazioni che hanno utilizzato l'acido folico, diversa a seconda della prevalenza iniziale: più elevata, del 79%, al Nord (prevalenza iniziale del 4,8‰), più bassa, del 41%, al Sud (prevalenza iniziale dell'1‰). Gli interventi di fortificazione invece mostrano un decremento dei DTN rispettivamente del 23%, 54%, 48% e 37%, con tassi di prevalenza pre-fortificazione dell'1-2‰.

Come sottolineato in precedenza, negli ultimi anni si stanno consolidando alcune dimostrazioni di efficacia della supplementazione anche per altre malformazioni congenite. In questo ambito le evidenze sono meno robuste e l'effetto probabilmente più debole (tabella I).

Le prove di efficacia di una riduzione del rischio di malformazioni congenite associata a supplementazione periconcezionale di acido folico (con o senza altre vitamine) sono dunque considerate robuste per i DTN e molto suggestive, anche se ancora non definitive e precise nella stima di riduzione, per altre malformazioni.

### **Come riduce il rischio di malformazioni congenite**

Per quanto non si abbiano dati certi, molto probabilmente alcuni embrioni hanno un fabbisogno maggiore di acido folico per poter sviluppare regolarmente alcune strutture, e tale necessità è determinata geneticamente. Sulla base di questa ipotesi negli ultimi anni si è sviluppato un crescente interesse della ricerca per i geni che codificano per enzimi coinvolti nel metabolismo dei folati, allo scopo di identificare eventuali mutazioni che ne alterano il funzionamento.

Il gene più studiato fino ad oggi è il gene

MTHFR, localizzato sul cromosoma 1 (1p36.3), che codifica per l'enzima 5,10-metilentetraidrofolato reduttasi. Sono stati descritti due polimorfismi di questo gene che rendono l'enzima meno efficiente in vitro: C677T e A1298C. Il polimorfismo C677T è più frequente sia in omozigosi (TT) sia in eterozigosi (TC) tra i soggetti con spina bifida. Una meta-analisi<sup>14</sup> ha indicato che l'odds ratio (OR) per l'associazione di questo polimorfismo con la spina bifida è, per i soggetti affetti con genotipo TT (15 studi), di 1,75 (1,41-2,18), e di 1,16 (0,99-1,35) per quelli con genotipo TC. Tale associazione è presente anche per le madri ma non per i padri. La relazione tra spina bifida e soggetti con genotipo TT è presente anche in Italia<sup>15</sup> con un OR di 1,73 (1,15-2,59). Per il polimorfismo A1298C la relazione non è chiara. Alcuni studi suggeriscono una interazione tra genotipi alterati, tra genotipo materno e del figlio affetto, e tra genotipo alterato e bassi livelli di folatemia o deficit di vitamina B<sub>12</sub><sup>16-18</sup>, segnalando il ruolo di un complesso multifattoriale di fattori di rischio genetici e ambientali.

Le associazioni osservate fino ad oggi, in particolare per la MTHFR C677T con la spina bifida, spiegano appena il 10-15% di tutte le spine bifide (frazione eziologica). Gli studi su altre malformazioni sono scarsi e non forniscono informazioni chiare.

Questi studi hanno fatto supporre che l'analisi del genotipo materno possa essere di una qualche utilità predittiva per valutare il rischio di spina bifida o come argomento utile a una maggiore compliance nell'assunzione di acido folico pre-concezionale. Ciò è del tutto falso. Infatti se la prevalenza nella popolazione italiana del genotipo MTHFR 677TT è del 20% e se il rischio di DTN per le donne con tale genotipo è doppio rispetto a chi è eterozigote (TC) o normale (CC), il rischio individuale di DTN passa, in Italia, da una probabilità di 1 su 1.600 per gli eterozigoti e normali a 1 su 800 per gli omozigoti per la mutazione (TT). Tali studi dunque per ora non hanno alcun riflesso nella pratica clinica ma aiutano a comprendere i meccanismi patogenetici.

### **I dati di efficacia sulla popolazione italiana**

L'efficacia dell'acido folico, come intervento di prevenzione primaria dei DTN e di altre malformazioni, è stata messa in evidenza da studi condotti in diversi paesi ed è ragionevole supporre che la popolazione italiana risponda in maniera simile alle popolazioni indagate.

Nonostante ciò, vi è un'ipotesi di "scarsa generalizzabilità" dei risultati che però poggia su un assunto errato (a) e una osservazione influente (b).

(a) L'assunto errato è che gli italiani assumono, con la normale alimentazione, una quantità di folati maggiore di altre popolazioni grazie alla dieta mediterranea. In realtà i livelli di folati plasmatici ed eritrocitari si aggirano rispettivamente intorno a 5 ng/mL (13 nm/L e 170 ng/mL (450 nm/L)<sup>19-20</sup>, valori inferiori a quelli rilevati in Svezia<sup>21</sup>, simili a quelli osservati negli Stati Uniti prima della fortificazione di cibi comuni con acido folico, e più bassi dei livelli ottenuti post-fortificazione sia negli Stati Uniti<sup>22-23</sup> sia in Cile<sup>24</sup>. Agli italiani quindi gioverebbe una quantità aggiuntiva di acido folico.

(b) Il tasso dei DTN in Italia è considerato "basso" in confronto agli altri paesi. Va tuttavia osservato che:

- il tasso totale dei DTN in Italia, considerando le interruzioni volontarie di gravi-

danza, non è trascurabile (DTN totali 0,75‰, per 530.000 gravidanze/anno: circa 400 casi all'anno), per quanto tale dato sia circa la metà di quanto osservato altrove (1-2‰);

- la riduzione del tasso dei DTN non può essere l'unico elemento delle nostre riflessioni, ma bisogna anche tenere conto di tutte le altre malformazioni che si gioverebbero di una maggiore assunzione periconcezionale di acido folico (tabella II).

Nella tabella II viene fornita una ipotesi di riduzione delle diverse malformazioni se tutte le donne utilizzassero una supplementazione di almeno 0,4 mg di acido folico nel periodo periconcezionale. Si tratta, come si può notare, di effetti rilevanti sia dal punto di vista individuale sia di sanità pubblica. Attualmente, la riduzione relativa del rischio (RRR) stimata è intorno al 50-70% per i DTN e inferiore o variabile per le altre malformazioni.

**Tabella II** – Ipotesi di riduzione delle malformazioni congenite in Italia grazie alla supplementazione con acido folico a tutte le donne nel periodo periconcezionale.

Malformazioni congenite	Incidenza feto-infantile per 10.000	RRR <sup>1</sup>	Incidenza feto-infantile per 10.000 con AF <sup>2</sup>	Riduzione casi/anno <sup>3</sup>
<b>Totale malformazioni congenite</b>	<b>200<sup>4</sup></b>	<b>15–20 %</b>	<b>160–170</b>	<b>1,590–2,120<sup>5</sup></b>
Anencefalia	3,5 <sup>4</sup>	33%	2,4	61
Spina bifida	4 <sup>4</sup>	33%	2,7	70
Cardiopatie	60	25%	45	795
Labiopalatoschisi	6	25%	4,5	80
Palatoschisi	4	25%	3,0	53
Ipo-agenesie degli arti	6	40%	3,6	127
Difetti renali	10	40%	6,0	212
<b>Totale precedenti</b>	<b>93,5</b>	<b>28%<sup>6</sup></b>	<b>67,2</b>	<b>1,398</b>

<sup>1</sup>RRR: Riduzione relativa del rischio. La stima di riduzione del rischio di malformazioni in generale del 20% è la più conservativa possibile, tenuto conto dei risultati degli studi disponibili (tabella I). Va ricordato che nello studio randomizzato ungherese la prevalenza tra i controlli del totale delle malformazioni era del 4%. La stima di riduzione del rischio del 33% per i DTN è ritenuta la più ragionevole, considerata l'incidenza relativamente più bassa di DTN nella popolazione italiana rispetto ad altre popolazioni. La stima per le altre malformazioni tiene conto dei dati della tabella I, e si mantiene su livelli medio-bassi.

<sup>2</sup>AF: acido folico. Incidenza nell'ipotesi che tutte le donne assumano i supplementi (almeno 0,4 mg pro die).

<sup>3</sup>Riduzione dei casi per anno in Italia considerando 530.000 nati/anno.

<sup>4</sup>L'incidenza osservata nel periodo 1999–2001 in 4 registri italiani che registrano anche le interruzioni volontarie di gravidanza (Nord Est, Emilia Romagna, Toscana, Campania) è stata del 2,2 per 10.000 per l'anencefalia e del 3,0 per 10.000 per la spina bifida (Eurocat e ICBDMS). Nella tabella è stata utilizzata una correzione per il sotto-accertamento (soprattutto interruzioni volontarie di gravidanza dopo diagnosi prenatale) e per la generalizzazione in Italia (prevalenza nelle regioni sud-insulari leggermente superiore), del 37% per l'anencefalia e del 25% per la spina bifida. I tassi delle altre malformazioni e del totale sono quelli osservati nei registri italiani, senza alcuna correzione.

<sup>5</sup>L'incertezza della stima ipotizzata di riduzione del "totale malformazioni" riflette l'incertezza riguardo alla possibilità che l'acido folico possa ridurre "di poco" anche altre malformazioni non indicate nella lista e non ancora studiate a fondo in modo specifico per la loro rarità o difficoltà di definizione. Si basa su una stima "prudente" delle prove fornite dagli unici due studi disponibili sul totale delle malformazioni.

<sup>6</sup>Media pesata di RRR considerando il totale delle malformazioni ritenute oggi "più" sensibili all'azione preventiva dell'acido folico.

### Il polimorfismo MTHFR C677T in Italia e l'associazione con i DTN

Generalizzando i risultati ottenuti nei vari studi alla situazione italiana è emerso quanto alta sia la prevalenza del polimorfismo MTHFR C677T nel nostro paese. Tale polimorfismo, trasmesso come tratto autosomico recessivo, è presente allo stato omozigote nel 5-15% dei soggetti, ed è caratterizzato dalla termolabilità, ovvero una minore attività biologica che comporta una maggiore sensibilità a carenze di folati<sup>25</sup>, anche di lieve entità. In Italia tale polimorfismo è molto più frequente che in altre popolazioni e il genotipo omozigote mutato (TT) ha una prevalenza variabile, con gradiente nord-sud, del 15-25%<sup>25</sup>. Non è chiara la relazione tra prevalenza di questa mutazione, incidenza dei DTN e l'abituale consumo di folati nelle varie popolazioni. Queste considerazioni suggeriscono dunque di ritenere la popolazione italiana non diversa dalle altre per quanto riguarda i rischi associati ad un apporto periconcezionale di folati non ottimale.

### L'effetto protettivo su alcune complicanze della gravidanza e altre patologie infantili

Negli ultimi tempi si stanno sviluppando nuovi filoni di ricerca relativi ai possibili benefici della supplementazione periconcezionale di folati, di particolare interesse in ambito materno-infantile.

In anni recenti, una serie di studi sperimentali e clinici hanno suggerito come l'omocisteina possa rivestire un ruolo importante nell'insorgenza di alcune complicanze della gravidanza: aborto spontaneo ricorrente<sup>26</sup>, ritardo di crescita intrauterina<sup>27-28</sup>, pre-eclampsia<sup>29-31</sup> e distacco di placenta<sup>32-33</sup>. È possibile, in alcuni casi, ipotizzare un meccanismo patogenetico comune mediato dall'incremento dell'omocisteina che, attraverso la presenza di un danno vascolare, con effetti nel distretto placentare, possa compromettere l'esito della gravidanza. Gli studi mostrano costantemente un rischio aumentato di patologie del secondo e terzo trimestre di gravidanza in donne con iperomocisteinemia<sup>29,33,34</sup>. Appare comunque indispensabile che questa importante area di ricerca si sviluppi ulteriormente per fornire dati di popolazione relativi all'Europa mediterranea e definisca al meglio i livelli e il ruolo dell'omocisteina in gravidanza, nonché il potenziale effetto del trattamento con acido folico nel prevenire l'insorgenza di tali complicanze ostetriche<sup>35</sup>.

Sul versante pediatrico vi è stata la comparsa in letteratura di studi che suggeriscono una riduzione del rischio nei bambini di sviluppare una leucemia linfoblastica acuta, grazie all'assunzione di acido folico in gravidanza<sup>36</sup>. Tale indicazione non è stata confermata in studi successivi, che hanno mostrato comunque una diminuzione dei casi di neuroblastoma, a seguito della messa in atto di programmi di fortificazione alimentare con acido folico<sup>37</sup>.

Di recente sono stati prodotti anche studi che hanno valutato l'associazione tra polimorfismi di geni che codificano per vari enzimi coinvolti nel metabolismo dell'acido folico e della vitamina B<sub>12</sub> e l'insorgenza della Sindrome di Down<sup>38-43</sup>. Inoltre in uno studio<sup>44</sup>, ma non in un altro<sup>45</sup>, è stato individuato un numero significativamente più elevato, rispetto all'atteso, di casi di Sindrome di Down in sottogruppi a rischio per DTN e, viceversa, un numero significativamente più elevato di DTN in famiglie a rischio di Sindrome di Down. Tutto ciò suggerisce una relazione tra i due eventi la cui interpretazione, ancora controversa, potrebbe chiamare in causa un aumento delle concentrazioni plasmatiche materne di omocisteina<sup>38,46</sup>, forse mediato dalla presenza di varianti enzimatiche coinvolte nel ciclo della metilazione<sup>38,41,47</sup>, di livelli plasmatici e tissutali subottimali di folati e vitamina B<sub>12</sub>, insieme a una ridotta disponibilità di ATP. Il tutto potrebbe essere complicato dalla diversa prevalenza nelle popolazioni dei vari polimorfismi coinvolti, dalla loro interazione e da quella con le abitudini alimentari e altre caratteristiche genetiche<sup>48</sup>. Si tratta certamente di ipotesi di ricerca interessanti e potenzialmente di grande impatto, da sottoporre necessariamente a ulteriori approfondimenti e conferme. Di fatto, ad oggi, due analisi di valutazione dell'impatto della fortificazione sulla riduzione della Sindrome di Down, pur mostrando un effetto protettivo sui DTN, non hanno suggerito effetti per tale patologia né in Canada<sup>49</sup> né in Cile<sup>13</sup>.

### Forme e dosaggi di acido folico consigliati

L'acido folico si sintetizza facilmente e a costi molto bassi. È presente in diversi preparati vitaminici da solo o insieme ad altre vitamine e micronutrienti. Tutte le prove di efficacia prodotte a favore della riduzione del rischio di malformazioni congenite riguardano l'acido folico sintetico (acido pteroilglutammico - PteGlu). L'acido folinico (5-formil-THF) è un immediato precursore del 5,10-



metilene-THF. La somministrazione orale di acido folinico aggira le tappe di deconiugazione e riduzione necessarie per l'attivazione dell'acido folico. Il suo impiego in medicina è limitato all'assunzione per controbilanciare l'effetto antifolico del methotrexate. Tuttavia, una revisione sistematica, che ha valutato l'efficacia dell'acido folinico vs l'acido folico nei trattamenti con methotrexate a basse dosi nell'artrite reumatoide, non ha mostrato chiari vantaggi per l'acido folinico, tali da superare il problema del suo costo elevato<sup>50</sup>. Inoltre l'impiego di acido folinico non sembra neppure scontato nel trattamento di pazienti dializzati<sup>51</sup>.

Sulla base di queste considerazioni, l'acido folico rappresenta senza dubbio la forma consigliabile per un utilizzo con finalità preventive nella popolazione sana.

Un prodotto multivitaminico, con altre vitamine del complesso B (in particolare B<sub>6</sub> e B<sub>12</sub>) è preferibile: la maggior parte delle prove di efficacia si basa infatti sull'utilizzo di prodotti multivitaminici<sup>2,4,5,6,8</sup>, anche se un paio di studi hanno dimostrato che è l'acido folico l'elemento chiave di maggiore importanza<sup>7,9</sup>. A breve, sarà introdotta sul mercato italiano una nuova formulazione a base di acido folico, con indicazioni terapeutiche per la prevenzione dei DTN. La specialità, non ancora in fase di contrattazione, dovrebbe entrare in classe A, a carico cioè del SSN.

I criteri, ritenuti più idonei per la scelta dei prodotti contenenti acido folico, sono, in ordine di importanza:

- il prodotto non deve contenere vitamina A (retinolo) preformata, in quanto è stata segnalata la possibilità che questa sia teratogena; non vi è rischio di teratogenicità, invece, per i precursori della vitamina A (ad esempio i carotenoidi quali il betacarotene) che sono solitamente contenuti nei prodotti multivitaminici;
- il costo deve essere basso; all'estero sono disponibili (anche attraverso Internet) preparati da 0,4 mg/die e 0,8 mg/die al costo di 1-2 centesimi di euro al giorno;
- le probabilità di compliance.

La quantità di acido folico sintetico assunto, che si è dimostrata efficace nel ridurre il rischio di malformazioni, è variabile e oscilla tra 0,4-0,8 mg e 4-5 mg al giorno (un solo studio di ricorrenza delle labiopalatoschisi ha utilizzato 10 mg/die<sup>52</sup>). Questo dosaggio può essere ottenuto in modo continuativo solo attraverso l'assunzione di supplementi vitaminici. L'alimentazione, infatti, dif-

ficilmente supera 0,5 mg al giorno<sup>53</sup> e la supplementazione mostratasi efficace va considerata sempre in aggiunta agli usuali 0,2 mg/die di acido folico, assunto come media giornaliera di popolazione con gli alimenti<sup>1,54,55</sup>.

Per le donne che abbiano già avuto un feto con DTN (e probabilmente con qualsiasi malformazione) o con familiarità per tali difetti, affette da epilessia (le cui terapie aumentano il fabbisogno di folati) o da diabete, la dose consigliata da vari esperti e linee guida è di 4-5 mg al giorno. Tale distinzione è probabilmente artificiosa, condizionata dai dosaggi utilizzati nello studio randomizzato multicentrico dell'MRC inglese (4 mg)<sup>7</sup>, che confermava in definitiva come gli stessi risultati ottenuti negli studi osservazionali di Smithells<sup>2,4</sup>, condotti con 0,38 mg/die di acido folico e altre vitamine, non fossero spiegabili con bias di qualsivoglia natura. Tale distinzione è tuttavia rimasta in tutte le raccomandazioni sulla base dell'argomentazione che 0,4 mg forniscono un evidente effetto di riduzione del rischio, e 4 mg sono stati utilizzati nelle situazioni a rischio.

A complicare la decisione sul dosaggio è intervenuta una recente revisione sui dosaggi efficaci che suggerisce un effetto dose-dipendente: maggiore è la quantità di acido folico assunta, più elevata è la folatemia e più ampia la riduzione dei DTN; non solo, tale riduzione sarebbe tanto più elevata quanto più basso è il livello base di folatemia nella popolazione<sup>56,57</sup>. Ad esempio, nella fascia di folatemia di base di 2,5 ng/mL (livelli di carenza), la riduzione dei DTN passerebbe dal 52% con 0,4 mg al 91% con 5 mg; in quella con folatemia di base di 10 ng/mL (livelli più che buoni), la riduzione dei DTN varierebbe dal 23% con 0,4 mg al 75% con 5 mg. L'analisi di Wald<sup>56</sup>, se vera, suggerisce anche che le popolazioni a buoni livelli di folatemia abbiano bisogno di maggiori quantità di acido folico per ottenere un effetto sensibile.

Il dilemma del dosaggio rimane tuttora aperto: il minimo è 0,4 mg/die (supplementari comunque agli usuali 0,2 mg introdotti con la dieta). Dosaggi superiori fino a 1 mg/die potrebbero essere utili senza rischi collaterali ragionevolmente ipotizzabili (o almeno simili a quelli di 0,4 mg); dosaggi superiori a 1 mg/die dovrebbero essere valutati con attenzione, soprattutto sulla base del noto principio di precauzione. Dosaggi di 4-5 mg possono essere consigliati solo a specifiche fasce di popolazione a rischio.

L'ultima annotazione sul dosaggio riguarda la periodicità. Se 0,4-1 mg pro die raccoglie il massimo dei consensi (vedi anche le recenti linee guida canadesi<sup>58</sup>), è opportuno considerare che tale dosaggio medio (o meglio, un tale effetto sulla folatemia) si potrebbe ottenere anche con 5 mg due volte a settimana, oppure ogni 5 giorni. È utile ricordare, a questo proposito, che in Messico<sup>59</sup> è stata dimostrata una riduzione dei DTN in seguito a una campagna che consigliava 5 mg di acido folico una volta la settimana. Inoltre uno studio randomizzato condotto in Nuova Zelanda<sup>60</sup> ha evidenziato incrementi sovrapponibili di folati eritrocitari dopo supplementazione con 0,4 mg/die o con 2,8 mg/settimana.

Le opzioni dunque sono numerose: l'importante è che la donna aperta alla procreazione assuma acido folico, da solo o con altre vitamine, il più disponibile, il più economico e a maggiore compliance nel lungo periodo.

### Effetti collaterali dell'acido folico

L'acido folico non è tossico per l'uomo, anche a dosi molto superiori a quelle terapeutiche<sup>53</sup>. Le segnalazioni di effetti collaterali o di disturbi da acido folico sono aneddotiche o riportate in studi non controllati. Il dato assodato è che nei pazienti affetti da carenza di vitamina B<sub>12</sub>, la somministrazione di acido folico è in grado di apportare una remissione ematologica, con correzione dell'anemia megaloblastica, mentre le manifestazioni neurologiche permangono e diventano progressive. A fronte di tale preoccupazione sta l'osservazione della rarità della carenza da vitamina B<sub>12</sub> e la maggiore capacità diagnostica di una sua carenza.

Sul versante materno-infantile è opportuno tenere presente che il follow-up eseguito nei nati le cui madri erano state incluse nei trial clinici per valutare i benefici della supplementazione ha mostrato una maggiore incidenza di ansia a 7-10 anni di vita nei bambini nati dalle madri che avevano ricevuto la supplementazione nello studio inglese<sup>61</sup>. Tali indicazioni non sono però state confermate dallo studio ungherese<sup>62</sup>.

Recenti segnalazioni di un possibile aumento di gravidanze gemellari in seguito all'assunzione di acido folico periconcezionale<sup>63</sup>, suggerite anche in precedenza<sup>64,65</sup>, non sono state confermate dallo studio di coorte condotto nella popolazione cinese<sup>66</sup> che aveva ricevuto una supplementazione di 0,4 mg al giorno, né dall'analisi del-

l'incidenza di gemelli negli anni post-fortificazione negli Stati Uniti<sup>67,68</sup>. Si tratta dunque per queste ultime perplessità di un'ipotesi di ricerca che ad oggi non sposta le valutazioni sui possibili benefici, ma che sostiene la necessità di attivare un sistema di sorveglianza di popolazione che accompagni la diffusione della supplementazione.

L'esperienza clinica e la rilevazione dati nell'ambito del progetto "Conoscere per Prevenire, 6+1"<sup>69</sup> indicano chiaramente un utilizzo diffuso di formulazioni contenenti fino a 15 mg del preparato, per lo più successivo al concepimento. Nel mercato italiano si assiste infatti alla disponibilità di oltre 25 formulazioni di acido folico a tali dosaggi, diffusamente promosse tra i medici dall'industria. Questo naturalmente può sollevare alcune preoccupazioni rispetto ai costi e alla sicurezza di dosaggi inutilmente elevati di acido folico, superiori a 5 mg al giorno, in età riproduttiva e in gravidanza. Pur considerando come l'acido folico, utilizzato da molti anni in diverse condizioni, si sia dimostrato sicuro ed efficace, appare opportuno mantenere un generale atteggiamento di cautela, in quanto di fatto non conosciamo i possibili effetti sulla popolazione legati all'assunzione di dosaggi molto elevati di acido folico in età fertile prima del concepimento.

### Quando va iniziata la supplementazione e per quanto tempo può continuare

Per ottenere adeguate concentrazioni plasmatiche di folati durante il periodo periconcezionale, l'assunzione di acido folico dovrebbe iniziare almeno 3-4 settimane prima del concepimento; anche se c'è chi sostiene di iniziare, *in extremis*, anche dopo il concepimento<sup>70</sup>. In pratica, poiché la data del concepimento non può essere stabilita a priori, dovrebbe essere raccomandata l'assunzione periodica di acido folico alle coppie che programmano una gravidanza (in particolare a quelle che utilizzano induttori dell'ovulazione) e a quelle che non la escludono in presenza di rapporti senza l'utilizzo di metodi contraccettivi. Obiettivo dell'intervento è far arrivare all'embrione, sin dai primi giorni del concepimento e per tutto il periodo organogenetico (primo trimestre), una quantità ottimale di acido folico, attraverso il plasma materno. L'assunzione prolungata di acido folico da parte di una donna non procura alcun effetto collaterale, anzi può risultare utile per la riduzione del rischio di patologie non con-

nesse alla riproduzione, come quelle cardiovascolari<sup>71,72</sup>. Comunque, il reale impatto della prevenzione primaria in quest'ambito sarà più chiaro soltanto alla luce dei trial clinici in corso. Altri ambiti di ricerca per i quali si ipotizzano interessanti sviluppi nell'utilizzo dei folati riguardano le neoplasie<sup>73,74</sup> e le malattie neuropsichiatriche<sup>75</sup>.

### La fortificazione alimentare come alternativa

Da qualche anno in paesi come gli Stati Uniti, il Canada, il Cile, il Sud Africa, una piccola quantità di acido folico sintetico viene addizionata ad alcune farine di uso comune ("fortificazione"), determinando così un aumento del consumo di acido folico in tutti i gruppi di popolazione. Negli Stati Uniti, l'obiettivo è stato quello di incrementare l'assunzione giornaliera media di acido folico di 0,1 mg/die, in Canada e in Cile di almeno 0,2 mg/die. Come accennato in precedenza, la riduzione nella prevalenza dei DTN è stata del 23%, 54%, 48% e 37% nei rispettivi paesi, suggerendo, come sostiene Wald<sup>56</sup>, un effetto dose-dipendente.

I programmi di fortificazione non sono comunque alternativi alla supplementazione farmacologica, ma rappresentano:

- (a) un'esigenza per assicurare a tutte le donne in età fertile un apporto maggiore di acido folico sia a quelle che non programmano la gravidanza (35-50% nei diversi paesi), sia a quelle che pur programmandola non pensano di prendere l'acido folico (proporzione imprecisata ma rilevante, specialmente in alcune popolazioni);
- (b) una risposta di sanità pubblica a costo molto basso, inferiore a quello della supplementazione, anche se sul dosaggio (0,1 e 0,2 mg/die sono obiettivi subottimali nei confronti degli almeno 0,4 mg/die considerati efficaci) è stata necessaria una decisione di compromesso, mediata dalla valutazione dei potenziali benefici e rischi sulla popolazione generale:
  - per assicurare a tutti, a costo zero (o quasi), una maggiore quantità di acido folico, modesta ma forse sufficiente;
  - per non far correre rischi eccessivi a fasce di popolazione, come ad esempio gli anziani, che potrebbero presentare carenze nutritive specifiche di vitamina B<sub>12</sub>, sviluppare l'anemia perniciose e non avere la possibilità di una diagnosi precoce perché i segni ematologici sa-

rebbero mascherati dall'assunzione di adeguate quantità di acido folico.

La fortificazione alimentare, per i paesi che hanno affrontato con impegno questi aspetti, sembra comunque essere il nodo cruciale per ottenere benefici importanti in termini di popolazione. Infatti, le campagne informative rivolte alle coppie in età fertile, pur contribuendo a raggiungere in paesi come l'Olanda percentuali di utilizzo della vitamina intorno al 50%<sup>76</sup>, non sembrano rappresentare uno strumento che, da solo, sia in grado di aumentare in modo sostanziale la supplementazione in età fertile<sup>77-79</sup>. Gli stessi risultati del progetto "Conoscere per Prevenire, 6+1" orientano in questo senso anche per l'Italia.

### La situazione in Italia

Le evidenze disponibili individuano nell'uso periconcezionale di acido folico un intervento in grado di prevenire ogni giorno diverse migliaia di casi di malformazioni nel mondo. Gli strumenti per promuovere l'uso di supplementi includono campagne di educazione mirate, con particolare attenzione alle donne in età riproduttiva e agli operatori sanitari, insieme alla disponibilità sul mercato e all'accesso a preparati contenenti acido folico.

In Italia si sta sviluppando una strategia indirizzata a sostenere e mantenere nel tempo campagne di prevenzione primaria per la supplementazione periconcezionale di folati. Un gruppo di esperti ha stilato delle raccomandazioni ufficiali e si è creato un Network di collaborazione, a livello nazionale, a sostegno della diffusione delle indicazioni sull'uso di acido folico nelle donne in età riproduttiva (vedi box).

Un numero ancora troppo alto di medici e, più in generale, di operatori sanitari, non raccomanda esplicitamente l'uso di acido folico in epoca periconcezionale. A conferma di ciò, dati relativi a più di mille donne che avevano partorito nati sani a termine tra il 1994 e il 1997, mostravano come la quota di donne che dichiarava di aver usato supplementi multivitaminici in gravidanza fosse intorno al 6%<sup>80</sup>. La rilevazione dati realizzata prima della campagna informativa nell'ambito del progetto "Conoscere per Prevenire, 6+1"<sup>81</sup> ha confermato queste stime, segnalando una scarsissima copertura. Non è sorprendente quindi che sondaggi recenti in diverse regioni italiane (Friuli, Piemonte, Toscana, Emilia Romagna e Basilicata)



## Box NETWORK ITALIANO PROMOZIONE ACIDO FOLICO PER LA PREVENZIONE PRIMARIA DEI DIFETTI CONGENITI

■ Il 26 aprile si è tenuta presso l'Istituto Superiore di Sanità (ISS) la prima riunione del "Network Italiano Promozione Acido Folico per la Prevenzione Primaria dei Difetti Congeniti", promosso dal Centro Nazionale Malattie Rare (CNMR)-ISS (dott.ssa D. Taruscio) e dall'International Centre on Birth Defects (prof. P. Mastroiacovo), in collaborazione con il Birth Defects and Developmental Disabilities Centers for Disease Control and Prevention of Atlanta (dott. L.D. Botto).

■ Il Network, coordinato dal CNMR-ISS, ha già elaborato la Raccomandazione per l'uso peri-concezionale dell'acido folico, consultabile sul sito web [www.cnmr.iss.it](http://www.cnmr.iss.it) (vedi sezione Acido Folico), che verrà approvata nella sua stesura definitiva nel corso della prossima riunione (ISS, 8 novembre 2004).

■ L'obiettivo principale del Network è di promuovere, armonizzare e rendere più visibili azioni in favore di un maggior apporto di acido folico nel periodo peri-concezionale, come strategia necessaria per attuare programmi di prevenzione primaria di alcuni difetti congeniti.

■ Per raggiungere questo obiettivo nel corso della riunione dell'8 novembre p.v. verranno attivati Gruppi di lavoro, i cui temi sono stati preliminarmente delineati nella prima riunione del Network e comprendono "Advocacy", "Alimentazione appropriata", "Disponibilità di prodotti farmaceutici, OTC e specialità", "Formazione del personale socio-sanitario", "Promozione ed informazione alla popolazione", "Ricerca", "Sorveglianza e valutazione dell'impatto".

■ Ad oggi al Network hanno aderito

110 strutture pubbliche e private; sono attivamente coinvolti ricercatori dell'ISS, dell'Istituto Nazionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrizione, del CNR, funzionari del Ministero della Salute e delle Regioni, operatori delle ASL (ginecologi, pediatri, ecc.), medici di medicina generale, esponenti del mondo medico universitario ed ospedaliero, giornalisti, rappresentanti dei pazienti e delle loro famiglie, ecc.

■ L'adesione al Network, la sottoscrizione della raccomandazione e la partecipazione alla riunione (vedi Obiettivi e Moduli su [www.cnmr.iss.it](http://www.cnmr.iss.it), sezione Acido Folico) sono tuttora aperte a tutti i colleghi coinvolti nella tutela della salute materno-infantile, nella sorveglianza delle patologie congenite e nella promozione di appropriati stili di vita ed alimentari.

indichino come il 90-95% delle gravidanze non si avvalga dei benefici associati all'uso periconcezionale di acido folico.

In più, la supplementazione di folati alle dosi opportune non sembra venga prescritta in maniera adeguata neppure alle coppie a rischio per anamnesi positiva di DTN<sup>82</sup>.

### Considerazioni finali. La ricerca di sinergie per un intervento non più differibile

Le malformazioni congenite colpiscono 1 su 30-50 nati e causano circa il 30-40% di morti infantili in Europa e Nord America. Per la loro gravità, frequenza e cronicità contribuiscono notevolmente, in termini di morbidità, ospedalizzazioni, costi e sofferenze, al "carico" personale, familiare e sociale del paese. Due malformazioni gravi e comuni come i DTN e le cardiopatie congenite, che colpiscono in Italia rispettivamente 7-8 gravidanze su 10.000 e 60-80 gravidanze su 10.000, da sole sono responsabili di circa la metà delle morti infantili da malformazioni congenite.

La supplementazione periconcezionale con acido folico rappresenta quindi un fattore critico nella prevenzione dei difetti congeniti.

L'uso periconcezionale di acido folico, alla dose di almeno 0,4 mg/die, si è dimostrato utile nel prevenire il 50-70% dei DTN. Numerose ricerche suggeriscono anche ulteriori benefici, quali una riduzione globale dei difetti congeniti del 15-20%, con punte che raggiungono il 40-50% per alcune specifiche malformazioni.

L'aumentato apporto di acido folico si può ottenere attraverso:

- un'alimentazione equilibrata e ricca di alimenti ad alto contenuto di acido folico;
- una dieta ricca di alimenti fortificati con acido folico (farina, cereali, ecc);
- l'uso di supplementi (integratori) vitaminici a base di acido folico da solo o come parte di un multivitaminico.

L'alimentazione, anche se ricca di prodotti ad alto contenuto di acido folico, fornisce un modesto incremento (non più elevato di 0,2-0,4 mg/die) e richiede un certo impegno da parte delle persone che vogliono raggiungere tale obiettivo.

Una dieta ricca di prodotti fortificati consente un incremento medio di 0,1-0,2 mg/die a un costo estremamente basso e senza alcun impegno da parte delle persone target. L'aumento indiscriminato per tutta la popolazione, che si ottiene con la fortificazione, si va sempre più delineando come un effetto vantaggioso, consentendo una riduzione dell'omocisteina, riconosciuto fattore di rischio per patologie cardiovascolari.

Per arrivare a un consumo giornaliero di acido folico realmente appropriato, almeno 0,2 mg con gli alimenti e almeno 0,4 mg in più, come raccomandato sulla base degli studi di efficacia, l'unico strumento è la supplementazione giornaliera individuale. Gli svantaggi principali di questa strategia sono dati dall'impegno richiesto ai medici e alle persone target, e dal costo degli integratori, ancor oggi in Italia non trascurabile.

Nel nostro paese centinaia di nati ogni anno continuano ad essere affetti da gravi malformazioni, prevenibili grazie all'uso periconce-

zionale di acido folico, in quanto molti medici non conoscono appieno i benefici di tale vitamina e quindi non ne raccomandano l'uso alle proprie assistite in età fertile. Gran parte della sanità pubblica non interviene in modo significativo con raccomandazioni, educazione sanitaria o sostegno alla fortificazione.

È necessario e urgente intraprendere un'azione globale e integrata che porti a:

- una incisiva educazione sanitaria sui vantaggi dell'acido folico nel periodo periconcezionale;
- una maggiore disponibilità di :
  - alimenti fortificati con acido folico
  - supplementi vitaminici contenenti acido folico a basso costo e a carico del SSN;
- una più ampia promozione del counseling pre-concezionale, come strumento globale di prevenzione primaria dei difetti congeniti;
- un monitoraggio del successo di tutte queste attività. **bif**

## LA PAGINA DEL PAZIENTE - ACIDO FOLICO

## Raccomandazione per la riduzione del rischio di difetti congeniti

**Si raccomanda che le donne che programmano una gravidanza, o che non ne escludono attivamente la possibilità, assumano regolarmente almeno 0,4 mg al giorno di acido folico, 1-2 settimane prima del concepimento e per tutto il primo trimestre di gravidanza per ridurre il rischio di difetti congeniti.**

**O Perché?**

Sulla base di prove di efficacia ottenute in paesi diversi dall'Italia, si può affermare che la regolare supplementazione di acido folico iniziata prima del concepimento riduce il rischio di difetti del tubo neurale (DTN) del 50-70%<sup>1</sup>. Tale supplementazione potrebbe anche ridurre del 10-20%, il rischio di altri difetti congeniti, nel loro insieme relativamente comuni, tra cui alcune cardiopatie congenite e labio-palatoschisi.

**O Quanto?**

Per ottenere questi benefici, oltre ad una alimentazione corretta ed equilibrata ricca di frutta (es. arance, mandarini, clementini, succhi freschi di agrumi), verdura (es. spinaci, carciofi, indivia, bieta, broccoli, cavoli) e legumi (es. lenticchie, fagioli)<sup>2</sup>, è necessaria una supplementazione giornaliera iniziata prima del concepimento di almeno 0,4 mg fino a 1,0 mg o settimanale (5 mg x 1) di acido folico<sup>3</sup>.

Nelle donne che presentano riconosciuti fattori di rischio per DTN ed altre malformazioni suscettibili di riduzione del rischio con acido folico (es.: precedente gravidanza esitata in DTN, anamnesi familiare positiva per malformazioni, diabete insulino-dipendente, epilessia) sono raccomandati 4,0 – 5,0 mg al giorno.

**O Quando? Per quanto tempo?**

Poiché i più comuni e gravi difetti congeniti insorgono tra il concepimento e l'8<sup>a</sup>-12<sup>a</sup> settimana di gestazione, è necessario che la supplementazione inizi prima del concepimento e prosegua per tutto il primo trimestre di gravidanza<sup>4</sup>.

1. La stima attualmente più ragionevole per la popolazione italiana è del 30-40%, dato il tasso attuale dei DTN del 0,75 per mille.
2. La scarsa disponibilità in Italia di alimenti arricchiti con acido folico impedisce al momento attuale di aggiungere una raccomandazione per favorire un ampio uso di alimenti fortificati. L'argomento sarà oggetto di revisione della raccomandazione non appena, come auspicabile, si modificasse tale situazione.
3. La dose giornaliera efficace minima è di 0,4 mg al giorno, dosaggi superiori, fino ad un massimo di 5 mg al giorno, potrebbero fornire una riduzione del rischio più elevata. È sconsigliato superare i 5 mg/die. La prescrizione di dosaggi superiori a 1 mg al giorno dovrebbe essere effettuata tenendo presenti i problemi legati alla carenza di vitamina B<sub>12</sub>. La scelta del prodotto da consigliare deve tenere conto della regolare disponibilità locale e del costo.
4. La supplementazione con acido folico, che può avere durata variabile prima del concepimento tra 1-2 settimane a qualche anno, ai dosaggi consigliati riduce il rischio di ipovitaminosi (clinica e subclinica) da acido folico, non presenta effetti collaterali indesiderati, e potrebbe fornire un vantaggio nella prevenzione di alcune patologie (es.: trombosi vene profonde, ictus, infarto, tumori del colon, aborto, patologie della placenta).

## Bibliografia essenziale

Lista selezionata di pubblicazioni: revisioni e/o meta-analisi

- Botto LD, Moore CA, Khoury MJ, Erickson JD. Neural-tube defects. N Engl J Med 1999; 341: 1509-19.
- Lumley J, Watson L, Watson M, Bower C. Periconceptional supplementation with folate and/or multivitamins for preventing neural tube defects. Cochrane Database Syst Rev 2001; CD001056.
- Oakley GP Jr. Inertia on folic acid fortification: public health malpractice. Teratology 2002; 66: 44-54.
- Wald NJ, Law MR, Morris JK, Wald DS. Quantifying the effect of folic acid. Lancet 2001; 358: 2069-73. Erratum in: Lancet 2002; 359(9306): 630.
- Botto LD, Olney RS, Erickson JD. Vitamin supplements and the risk for congenital anomalies other than neural tube defects. Am J Med Genet 2004; 125: 12-21.
- Folic Acid: from research to public health practice. Report of a working group convened by WHO Europe and the Istituto Superiore di Sanità (Rome, Italy) on Policies for the Prevention of Congenital Disorders. Rome, 11-12 November 2002, Rapporti ISTISAN. A cura di D. Taruscio (in press).

