

Acido folico e prevenzione delle malformazioni congenite

randomized clinical trial in Veneto e metanalisi prospettica internazionale

L'associazione tra deficit di folati e difetti congeniti ha evidenziato, negli ultimi vent'anni, quanto l'assunzione di tale vitamina, durante lo sviluppo embrionale, possa prevenire le malformazioni congenite, in particolare i difetti del tubo neurale. Lo "STUDIO ACIDO FOLICO" si propone di promuovere il "counseling preconcezionale", di verificare l'efficacia della supplementazione con acido folico nel ridurre l'occorrenza delle malformazioni congenite e di realizzare una metanalisi prospettica promuovendo studi simili a livello internazionale.

In the past twenty years the association of folates deficit and congenital defects showed that the use of this vitamin during embryo development can prevent congenital malformations and the nerve tube defects, in particular. The "STUDIO ACIDO FOLICO" (Trial on Folic Acid) is intended to promote pre-conception counselling, to assess the efficacy of folic acid supplementation in reducing the incidence of congenital malformations and to carry out a prospective meta-analysis by promoting similar trials at international level.

R BORTOLUS¹, P MASTROIACOVO², P BENETOLLO³, PER IL GRUPPO DI LAVORO "STUDIO ACIDO FOLICO"

Introduzione

Lo studio "Efficacia di dosaggi elevati di acido folico nel prevenire l'occorrenza delle malformazioni congenite. Trial clinico randomizzato nelle donne in età fertile che programmano la gravidanza: 4 mg vs 0,4 mg di acido folico. Studio pilota di fattibilità e promozione di una metanalisi prospettica internazionale" è uno studio sperimentale randomizzato, controllato e in doppio cieco, che ha l'**obiettivo primario di valutare se la supplementazione periconcezionale con acido folico (AF) alla dose di 4 mg al giorno in confronto alla dose standard di 0,4 mg, riduca maggiormente l'occorrenza delle malformazioni congenite (MC) nel loro insieme.**

Il trial, che durerà all'incirca tre anni, risponde alle caratteristiche degli studi no-profit. Tra i principali obiettivi del progetto di ricerca si sottolinea l'offerta attiva alle donne in età fertile che si presenteranno ai Centri di randomizzazione, del "counseling preconcezionale" in modo formale e strutturato, utile alla riduzione dei rischi di MC e di altri esiti avversi della gravidanza, nonché la promozione dello studio in altre Regioni italiane e in altri Paesi dell'Europa e del mondo, **allo scopo di ottenere nell'arco di alcuni anni la realizzazione di una metanalisi prospettica, in grado di**

fornire risultati più validi e precisi.

Promotore e sede del Coordinamento generale del progetto di ricerca è l'Azienda Ospedaliera "Istituti Ospitalieri di Verona", che condurrà lo studio in collaborazione con le Unità operative del Gruppo di Lavoro "STUDIO ACIDO FOLICO" (box 1).

Nella Regione Veneto è previsto il coinvolgimento di Servizi ostetrico-ginecologici ospedalieri e territoriali e di Ambulatori di Medici di Medicina Generale distribuiti nelle diverse province. Lo studio è finanziato dall'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA), grazie ai bandi per la ricerca indipendente sui farmaci. Si tratta di un'iniziativa AIFA particolarmente attenta a sostenere progetti di ricerca che coinvolgono popolazioni normalmente escluse dagli studi su efficacia e sicurezza dei farmaci.

Quadro di riferimento del protocollo di ricerca

Il deficit "funzionale" di folati sta emergendo come una delle più comuni carenze nutrizionali. In questo senso è stato ben dimostrato che l'embrione ha più bisogno di AF rispetto a quello assunto normalmente con l'alimentazione anche nei Paesi economicamente ricchi, per poter avere uno sviluppo normale del tubo neurale.

La conseguenza principale di un deficit anche lieve di folati è un incremento dell'omocisteina plasmatica. Tale condizione è clinicamente silente, ma è attualmente riconosciuta come un fat-

1. Università degli Studi di Verona Azienda Ospedaliera "Istituti Ospitalieri di Verona"; 2. Alessandra Lisi International Centre of Birth Defects; 3. Direzione Sanitaria Azienda Ospedaliera "Istituti Ospitalieri di Verona"

box 1

IL GRUPPO DI LAVORO “STUDIO ACIDO FOLICO”

Responsabile scientifica e Coordinamento generale dello studio: R Bortolus - Azienda Ospedaliera “Istituti Ospitalieri di Verona”, Verona.

Unità operative coinvolte: P Mastroiacovo - A Lisi - International Centre on Birth Defects - ICBD, Roma; F Parazzini - Prima Clinica Ostetrico-Ginecologica, Università degli Studi di Milano, Milano; D Trevisanuto - Unità Operativa di Terapia Intensiva Neonatale, Dipartimento di Pediatria; Azienda Ospedaliera di Padova, Università degli Studi di Padova, Padova; L - Department of Pediatrics, Division of Medical Genetics, University of Utah, USA; FA Compostella - Agenzia Regionale Socio Sanitaria del Veneto, Venezia; R Joppi - Unità di Informazione sul Farmaco, Centro di Riferimento sul Farmaco della Regione Veneto, Verona; E Ioverno - SIMG, Vicenza; M Gangemi - ACP, Verona; F Marranconi - SMCV, Vicenza, G Andria - Dipartimento di Pediatria, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli; G Zanconato - Unità Operativa di Ostetricia e Ginecologia, Policlinico GB Rossi, Dipartimento Materno-Infantile e di Biologia-Genetica, Azienda Ospedaliera di Verona, Università degli Studi di Verona, Verona; AM Piussi - Facoltà di Scienze della Formazione, Dipartimento di Scienze dell'Educazione, Università degli Studi di Verona, Verona; R Moscon - Associazione Veneta Idrocefalo Spina Bifida - AVISB, Vicenza; M Giardino - Dipartimento per l'Assistenza Farmaceutica, Ulss 4 “Alto Vicentino”, Thiene (VI); L Cervi - Servizio di Farmacia, Azienda Ospedaliera Provincia di Lodi, Lodi.

tore di rischio metabolico per numerose patologie multifattoriali.

L'associazione tra deficit di folati e difetti congeniti è stata studiata intensamente negli ultimi vent'anni. Nell'ambito dei disordini dello sviluppo embrionale, i difetti del tubo neurale (DTN) rappresentano il paradigma delle MC prevenibili con AF. Nel tempo anche la riduzione di altre MC quali ad esempio difetti cardiaci, labiopalatoschisi, difetti del tratto urinario, ipo-agenesie degli arti è stata associata all'assunzione di AF, tuttavia **il meccanismo attraverso cui tale vitamina riduce il rischio di occorrenza o di ricorrenza di questi difetti congeniti non è stato ancora definitivamente chiarito.**

Le evidenze sulla prevenzione dei DTN

Negli anni '80 furono prodotti i primi studi osservazionali sull'efficacia dell'AF nella prevenzione primaria dei DTN.

Gli studi erano concentrati sul rischio di ricorrenza (un nato con DTN dopo un precedente nato con DTN), piuttosto che sul rischio della prima occorrenza, 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% (10-30 volte superiore).

Per i DTN **le prove di efficacia più robuste e convincenti, apparse in letteratura negli anni '90**, sono state:

- lo studio randomizzato promosso dal *Medical Research Council* e condotto in Europa (soprattutto Inghilterra e Ungheria) a partire dagli anni '80, che ha indicato una riduzione del 72% (RR=0,28 IC 95% 0,12-0,71) del rischio di ricorrenza di DTN nelle donne che iniziavano ad assumere 4 mg di AF in epoca preconcezionale¹;
- lo studio randomizzato svolto in Ungheria alla fi-

ne degli anni '80 che ha dimostrato una riduzione del rischio di occorrenza di DTN del 100% (minimo 40%) (OR=0,07 IC 95% 0,04-0,13) nelle donne che iniziavano ad assumere un multivitaminico con 0,8 mg di AF in epoca preconcezionale²;

- lo studio di intervento su un'ampia popolazione condotto in due zone della Cina nel quale alle donne che programmavano la gravidanza veniva consigliato di assumere una compressa al giorno contenente 0,4 mg di AF. Nel Nord, a prevalenza elevata di DTN (4,8 per 1.000) si è osservata una riduzione dell'85% dei DTN (RR=0,15 IC 95% 0,06-0,38) e nel Sud, a prevalenza bassa (1,0 per 1.000), è stata osservata una riduzione del 40% (RR=0,60 IC 95% 0,36-1,02)³.
- gli studi di confronto della prevalenza di DTN prima e dopo la fortificazione obbligatoria condotti in Canada, Stati Uniti, Costa Rica, Cile e Sud Africa^{4,5}.

Nel loro insieme, **gli studi controllati sulla supplementazione e quelli “pre-post” sulla fortificazione stimano una riduzione dei DTN variabile tra il 25 e l'85%.**

Per quanto riguarda tutte le altre MC gli studi sono numerosi. Quelli che riguardano specifiche MC sono stati sintetizzati in due revisioni sistematiche con metanalisi^{6,7} che suggeriscono una riduzione del rischio di alcune cardiopatie congenite quali difetti interventricolari, tetralogia di Fallot, trasposizione dei grossi vasi, intorno al 22%; labioschisi con o senza palatoschisi, intorno al 28%; palatoschisi, intorno al 20%; difetti del tratto urinario, intorno al 40%, con ampio intervallo di confidenza; difetti degli arti, intorno al 50%, con ampio intervallo di confidenza.

Le evidenze sulla prevenzione di altre malformazioni congenite

L'effetto preventivo dell'AF potrebbe dunque coinvolgere diverse, se non tutte, le MC, come suggerito sia dallo studio randomizzato condotto in Ungheria⁸, sia

da uno studio caso-controllo svolto ad Atlanta, negli USA⁹. In questi due studi è stata osservata una riduzione di tutte le malformazioni, esclusi i DTN, rispettivamente del 47% (studio ungherese) e del 16% (studio americano).

Si sottolinea che lo studio ungherese è stato effettuato con 0,8 mg/die di AF, e quello americano con una dose media di 0,4 mg/die. È ragionevole ipotizzare quindi che la quota prevenibile di MC con 0,4 mg/die sia del 20% e quella prevenibile con 4 mg sia superiore, almeno del 20%, se non maggiore.

Infine, particolarmente suggestivo è lo studio condotto in Ungheria che ha mostrato una sensibile riduzione della Sindrome di Down (rischio ridotto del 60%, OR=0,4 IC 95% 0,2-0,7) nelle donne che avevano assunto prima del concepimento 6-9 mg/die di AF¹⁰.

Sulla base delle evidenze disponibili, un deficit di folati potrebbe dunque causare difetti congeniti in embrioni geneticamente predisposti secondo uno o più dei seguenti meccanismi: elevati livelli di omocisteina, insufficiente disponibilità di nucleotidi per la sintesi di DNA con conseguente inibizione della proliferazione, riduzione delle metilazioni. Nessuno dei meccanismi patogenetici proposti è esaustivo e conclusivo, ma tale complessità ben si accorda con l'eziologia multifattoriale di questi disordini, determinati dall'interazione tra fattori genetici e nutrizionali.

Infine, diversi **studi osservazionali** hanno suggerito come **la carenza di AF sia implicata nell'insorgenza di altri esiti avversi della gravidanza**, quali aborto spontaneo ricorrente, ritardo di crescita intrauterina, pre-eclampsia, distacco di placenta, morte intrauterina, parto pretermine¹¹ e dei tumori infantili¹².

Obiettivi dello studio

Obiettivi primari del progetto di ricerca sono:

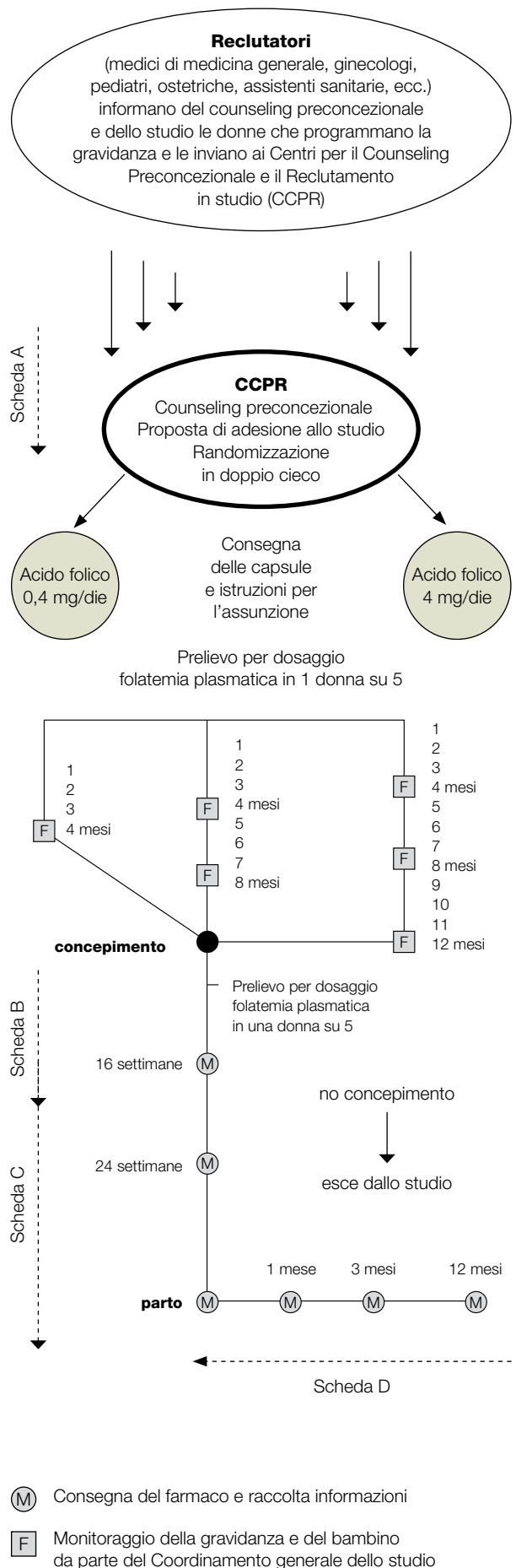
1. promuovere l'esecuzione del "counseling preconcezionale" in modo formale e strutturato con specifiche procedure;
2. eseguire uno studio clinico controllato randomizzato per valutare l'efficacia della supplementazione preconcezionale di AF 4 mg/die vs AF 0,4 mg/die in un campione di 5.000 donne, dimensionato alle possibilità di risorse umane ed economiche disponibili, valutando come esito primario la frequenza di MC;
3. promuovere tale studio o studi simili in ambito nazionale ed internazionale allo scopo di ottenere nell'arco di alcuni anni la realizzazione di una metanalisi prospettica, in grado di fornire risultati più validi e precisi.

Obiettivi secondari dello studio sono:

1. valutare nei due bracci di trattamento la gravità clinica delle MC che comunque si verificheranno per comprendere se l'assunzione di un dosaggio superiore di AF determina una minore gravità dei quadri clinici (ad esempio più spine bifide lombosacrali che toraciche, più cardiopatie semplici che complesse);

figura 1

FLOW-CHART DELLO STUDIO



- valutare nei due bracci di trattamento la frequenza di ulteriori effetti benefici sugli esiti della gravidanza (decremento di aborto spontaneo, aborto spontaneo ricorrente, ritardo di crescita intrauterina, pre-eclampsia, distacco di placenta, morte intrauterina, parto pretermine) e di eventuali effetti collaterali (incremento di gemelli dizigoti).

Disegno generale dello studio

Le donne in età fertile, tra i 18 e i 44 anni, che programmano la gravidanza e manifestano tale desiderio presso gli ambulatori dei ginecologici ospedalieri e territoriali, dei Medici di Medicina Generale, dei pediatri, delle ostetriche e delle assistenti sanitarie distribuiti nelle diverse province della Regione Veneto, saranno invitate a prendere contatto con i Centri di riferimento identificati per l'esecuzione del "counseling preconcezionale" completo e formale, per il reclutamento nello studio e la successiva randomizzazione.

Tali Centri saranno all'incirca 30, distribuiti nelle diverse province del territorio regionale. Si tratta di ambulatori ostetrico-ginecologici ospedalieri aziendali/universitari, ambulatori ostetrico-ginecologici territoriali, ambulatori della medicina generale in associazione, nell'ambito dei quali sarà previsto un orario "dedicato" a questa funzione.

Le pazienti randomizzate assumeranno il farmaco per un periodo di tempo "preconcezionale" variabile, legato al momento del concepimento, al quale si aggiungeranno i primi 3 mesi di gravidanza. Al concepimento la paziente deciderà in assoluta libertà presso quale professionista eseguire i controlli della gravidanza.

Per le donne randomizzate che avranno concepito sarà attivato un follow up periodico, con un attento monitoraggio delle MC evidenti durante la gravidanza, alla nascita o entro il primo anno di vita. Le donne saranno intervistate telefonicamente alla 16^a, 24^a e 40^a settimana di gestazione da un operatore sanitario addestrato ad hoc. Dopo il parto i nati saranno tenuti in follow up fino al 12° mese di vita (**figura 1**).

Conclusioni

Si tratta dunque di un progetto di ricerca complesso in termini organizzativi e di gestione complessiva, che punta ad obiettivi scientifici e di Salute Pubblica rilevanti. Oltre a ciò, l'attivazione dello studio, in corso di accreditamento ECM per la "formazione sul campo", rappresenterà un'occasione ancora abbastanza rara per **sperimentare nella pratica clinica un'attività integrata di rete**, che valorizza

il coinvolgimento multidisciplinare e multiprofessionale che l'interesse "trasversale" per queste tematiche consente.

Nello stesso tempo la conduzione del progetto veicolerà capillarmente il "counseling preconcezionale" insieme alla supplementazione con AF, pratiche di riconosciuta efficacia ma ad oggi ancora scarsamente implementate.

Bibliografia

- MRC Vitamin Study Research Group. Prevention of neural tube defects: results of the MRC Vitamin Study. *Lancet* 1991; 338: 131-7.
- Czeizel AE, Dudas I. Prevention of the first occurrence of neural-tube defects by periconceptional vitamin supplementation. *N Engl J Med* 1992; 327: 1832-5.
- Berry RJ et al. For the China-US Collaborative project for neural tube defect prevention. Prevention of neural-tube defects with folic acid in China. *N Engl J Med* 1999; 341: 1485-90.
- Boulet SL et al. For the National Birth Defects Prevention Network. Trends in the postfortification prevalence of spina bifida and anencephaly in the United States. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2008 May 15.
- De Wals P et al. P, Crowley M, Fernandez B, Lee NS, Niyonsenga T. Reduction in Neural-Tube Defects after Folic Acid Fortification in Canada. *N Engl J Med* 2007; 357: 135-42.
- Badovinac RL et al. Folic acid-containing supplement consumption during pregnancy And risk for oral clefts: a meta-analysys. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2007; 79:8-15.
- Goh YI et al. Prenatal Multivitamin Supplementation and Rates of Congenital Anomalies: A Meta-Analysis. *J Obstet Gynaecol Can* 2006; 28: 680-9.
- Czeizel AE, Dudas I, Metneki J. Pregnancy outcomes in a randomised controlled trial of periconceptional multivitamin supplementation. Final report. *Arch Gynecol Obstet* 1994; 255: 131-9.
- 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.
- Czeizel AE, Puho E. Maternal use of nutritional supplements during the first month of pregnancy and decreased risk of Down's syndrome: case-control study. *Nutrition* 2005; 21: 698-704.
- Catov JM et al. Association of periconceptional multivitamin use and risk of preterm or small-for-gestational-age births. *Am J Epidemiol* 2007; 166: 296-303.
- Goh YI, Bollano E, Einarson TR, Koren G. Prenatal multivitamin supplementation and rates of pediatric cancers: a meta-analysis. *Clin Pharmacol Ther* 2007; 81: 685-91.