

Türkiye'deki yüksek nöral tüp defekti sıklığı ve önlemek için yapılabilecekler

Ergül Tunçbilek

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Profesörü

SUMMARY: Tunçbilek E. (Department of Pediatrics, Hacettepe University Faculty of Medicine, Ankara, Turkey). The high incidence of neural tube defects in Turkey what should be done for prevention? Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 2004; 47: 79-84.

Various studies have shown the high incidence of neural tube defects (NTD) in Turkey. The estimated incidence is around 3 per 1,000 live births. A nationwide survey taking place in Obstetrics and Gynecology Departments of university hospitals has demonstrated that the incidence is highest in northern and eastern Anatolia, 4.32 and 4.94 per 1,000 live births, respectively. The incidence of NTD among illiterate mothers was as high as 9.1 per 1000 live births. Among genetic factors, MTHFR 677C→T polymorphism has been implicated in susceptibility to NTD in different populations. However, this polymorphism was not found to be a risk factor for NTD in the Turkish population in one study. Folic acid supplements taken periconceptionally have been definitely proven to significantly reduce the risk of NTD, and this scientific evidence has been translated into public health policies in many countries. Therefore, for primary prevention of NTD, folic acid supplementation and fortification of food with folic acid have vital importance in Turkey, and new policies must be developed by responsible bodies such as the Ministry of Health, universities, and nongovernmental organizations.

Key words: neural tube defects, prevention, folic acid.

ÖZET: Türkiye’de nöral tüp defektlerinin (NTD) sıklığını araştıran çeşitli çalışmalar, bu sıklığın bin canlı doğumda üç civarında olduğunu göstermektedir. Bu değer NTD’nin ülkemizde sık görüldüğüne işaret etmektedir. Üniversite kliniklerinde yapılan bir çalışmaya göre bu sıklık Kuzey ve Doğu Anadolu’da en yüksek (sırasıyla bin canlı doğumda 4.32 ve 4.54) olup, Batı Anadolu’da en düşüktür (bin canlı doğumda 2.17). Annenin eğitimine göre değerlendirildiğinde eğitimsiz anneler arasında bin canlı doğumda 9.1’e kadar yükselmektedir. Ülkemizde yüksek NTD sıklığının altında yatan faktörler arasında düşünülebilecek genetik yatkınlığın MTHFR 677C→T polimorfizmi bakımından söz konusu olmadığı gösterilmiştir. Başta beslenme olmak üzere değişik sosyoekonomik faktörler bu sıklık üzerinde etkili olabilir. Besinlerin folik asit ile zenginleştirilmesinin ve perikonsepsiyonel dönemde folik asit kullanımının NTD sıklığını azalttığı gösteren pek çok çalışma ve uygulama vardır ve bunlar pek çok ülkede halk sağlığını düzeltecek politikalar şeklinde uygulanmaya başlanmıştır. Bu nedenle NTD sıklığı yüksek olan ülkemizde de, birincil korunma sağlayabilmek için gerekli politikaların geliştirilmesinin yaşamsal önemi vardır ve başta Sağlık Bakanlığı olmak üzere üniversiteler ve sivil toplum kuruluşları hemen harekete geçmelidir.

Anahtar kelimeler: nöral tüp defektleri, önlem, folik asit.

Türkiye’de nöral tüp defektleri (NTD) konjenital anomalilerinin en ağırlarından olup epidemiyolojik bulgular prevalansın bölgesel ve demografik özelliklere göre değiştiğini göstermektedir. Türkiye, sağlık kayıt sisteminin iyi olmaması nedeni ile pek çok değişken gibi

çeşitli konjenital malformasyonların sıklığının bilinmediği bir ülkedir. Diğer göstergelerimiz gibi NTD sıklığı da çeşitli çalışmalardan elde edilmektedir.

Bu konuda bulabildiğimiz çalışmaların metodolojileri büyük farklılıklar gösterdiği için

karşılaştırılmaları çok anlamlı olmamakla birlikte Türkiye'de çeşitli illerde yapılmış çalışmaların sonuçlarına göre NTD sıklığı binde 3-5.8 arasında değişmektedir¹⁻¹³ (Tablo I). Çernobil'den sonra İzmir'de binde 8.9; Bursa, Mustafa Kemal Paşa'da binde 20.0'ye kadar yükselen değerler saptanmış olmakla birlikte vaka sayılarının çok düşük oluşu, doğum hızının ve doğum sayılarının düşüklüğü bu rakamların değerlendirilmesinde güçlük yaratmaktadır¹⁴. Yukarıda verilen değerler ülkemizde NTD sıklığının Avrupa ve ABD değerlerinden yüksek olduğunu göstermektedir. Bir çalışmada spina bifida/anensefali oranının 1.20 bulunması da NTD sıklığının yüksek olduğuna işaret eden ve bunu destekleyen bir bulgudur¹³.

Türkiye'deki Üniversite kliniklerinde Haziran 1993 – Temmuz 1994 arasında doğan 21907 çocuğun, çocuk doktorları tarafından muayene edilmesi ile yapılan çalışmada bulunan binde 3.0 rakamının Türkiye ortalaması olarak kabul edilebileceğini düşünüyorum¹³. Bu çalışmada NTD bölgelere göre incelendiğinde Kuzey ve Doğu Anadolu'nun en yüksek, Batı Anadolu'nun en düşük sıklığa sahip olduğu görülmektedir. Annenin eğitiminin olmadığı grupta binde 9.1'e kadar yükselen NTD sıklığı yüksek okul mezunları arasında binde 1.3'e düşmektedir ve anne yaşına göre incelendiğinde 35-39 yaş grubu anneler en yüksek (binde 5.6) NTD'li çocuk doğuran yaş grubu olarak bulunmuştur.

Bütün dünyada olduğu gibi bizde de NTD sıklığı ve dağılımındaki farklılıklar, etiyolojik faktörler olarak beslenme, kültürel veya genetik nedenler gibi bazı özgün veya özgün olmayan nedenlerin incelenmesi gerektiğini göstermektedir.

Son otuz yıldır çeşitli ülkelerde gebelerde folat eksikliğinin NTD'lerine neden olduğu konusunda araştırmalar yapılmaya başlandı. Daha sonra da pek çok gözlem annenin hamileliğinde folat durumu düzeltilince NTD tekrarlamadığını veya sıklığının azaldığını gösterdi. Folik asit, normal DNA yapımı için gerekli nükleotidlerin sentezi ve hücre içi metilasyon reaksiyonları için esansiyel olan bir maddedir. Hücre folik asit metabolizmasında değişik enzimler rol almaktadır. Yapılan çalışmalar metilen tetrahidrofolatredüktaz (MTHFR) enziminin bu metabolik yolda anahtar rol oynadığını göstermiştir. MTHFR, 5-10 metiltetrahidrofolatın 5 metiltetrahidrofolata dönüşümünü sağlar. 5 metiltetrahidrofolat homosisteinin metionine remetilasyon basamağında görev yapan bir metil donörüdür. MTHFR aktivitesinde bir azalma, homosisteinin metionine remetilasyonu için gerekli folik asit ihtiyacının artmasına neden olur. Yeteri kadar folik asit bulunmadığı durumda hücre içinde homosistein birikir, metionin remetilasyonu sağlanamaz ve sonuçta DNA metilasyonu eksik olur. DNA hipometilasyonu da DNA'nın yapım ve onarım bozukluğuna neden olur. MTHFR geninin bilinen üç alleli vardır. Bunlar 677 CT, 1298 AC ve 1059 TC olarak tanımlanmıştır. MTHFR 677 CT bir başka deyişle 677 pozisyonundaki C'nin T'ye değişmesi enzim aktivitesinde %35 kadar bir azalmaya neden olur. Enzim aktivitesinin düşük olduğu bu durumlarda homosisteinin metionine remetilasyonunun normal şekilde sağlanabilmesi için diyetle alınan folik asit miktarının artırılması gerekmektedir. Dışardan fazla miktarda folik asit alınmadığı takdirde DNA hipometilasyonu oluşabilir¹⁵.

Tablo I. Türkiye'de nöral tüp defektleri ile ilgili yapılmış çalışmalar (binde)

	1969	1976	1978	1981	1986	1987	1988	1990	1994	1995
Say (Ankara)	3.0									
Bucklay İzmir*)		1.99* (1947-76)								
İlter (İstanbul)*			2.2*							
Çavdar (Ankara)				2.5*						
Çağlayan (İzmir)					1.9	8.9	1.9			
Posacı (İzmir)						1.5				
Akar (M. Kemal Paşa)					5.8 (1983-86)	20.0	5.8			
Güvenç (Elazığ)					1.7	6.9	12.4	5.6		
Mocan (Ankara)					3.83		2.53			
Mocan (Trabzon)					2.12		4.39			
Himmetoğlu (Ankara)								2.7		
Tunçbilek (Türkiye)									3	

* Anensefalili hastalar

Bunu dikkate alarak 91 NTD'li çocuk, 72 anne, 63 baba ve 93 kontrolde yaptığımız bir çalışmada bu işten sorumlu tutulan MTHFR 677C→T mutasyonunun bizim için bir risk faktörü olmadığını saptadık¹⁶. Daha sonra MTHFR 1298 A→C polimorfizmi ile yapılan çalışma bu polimorfizmin Türk toplumu için belirli şartlarda (1298 AA ve 677 TT olan kişilerde 5.2 kat artmış risk bulundu. Ayrıca 677 C→T polimorfizmi NTD riskini 3.5 kat arttırırken, 677 C→T ve 1298 A→C birlikteliği bu sıklığı 3.8 kat arttırmaktadır) bir risk faktörü olabileceğini düşündürdü. Aradaki ilişki kuvvetli bir ilişki olmayıp bir yatkınlık şeklinde yorumlandı (K. Boduroğlu, Hacettepe Üniversitesi; kişisel görüşme).

Dünyada şimdiye kadar yapılan çalışmalarda bazı toplumlarda genetik yatkınlığa neden olan bazı polimorfizmler gösterilmiş olmakla beraber henüz bu konuda bilinmeyen genlerin olduğu ve bütün genetik faktörlerin belirlenmesinin günümüz şartlarında mümkün olmadığı düşünülmektedir. Çalışmamızda annenin eğitimi, yaşı ve sosyo-ekonomik faktörlere göre NTD sıklığının gösterdiği büyük farklılıklar, olası genetik faktörlerin yanında başta beslenme olmak üzere değişik çevresel faktörlerin bu sıklık üzerinde çok etkili olduğunu düşünmektedir.

Korunma

Nöral tüp defektli bebeklerin doğumlarının önlenmesinde alfa-fetoprotein ve ultrasonografi çok iyi iki tarama testidir. Gebeliğin 16-18. haftalarında 3 MoM değerinin üstündeki alfa-fetoprotein değerlerinin duyarlılığı anensefali için %98.2, spina bifida için %97.0'dır¹⁷.

İkinci trimesterde ultrasonografi ile başta nöral tüp defektleri olmak üzere pek çok organ anomalisini tanımlanabilmektedir. Ultrasonografinin genel olarak major konjenital malformasyonların saptanmasındaki duyarlılığının %30-50, özgünlüğünün %90 civarında olduğu gösterilmiştir. Ancak ultrasonografi yapan kişinin deneyimi, aletin rezolüsyon özelliği ve gebelik haftasının çok önemli olduğunun belirtilmesi gerekir¹⁸.

Nöral tüp defektli gebelik riskinin azaltılması için perikonsepsiyonel dönemde kullanılan folik asitin etkinliği bugün için tartışılmaz bir kesinliktedir ve bu bilgi pek çok ülkede toplum sağlığı politikalarına dönüştürülmüştür. Folik

asit NTD ilişkisi 1970'li yılların ortalarından beri ileri sürülmekte olup çeşitli ülkelerden pek çok çalışma bu bilgiyi desteklemiştir^{19,20}. Uluslararası çok merkezli bir çalışmada da perikonsepsiyonel folik asit kullanımının NTD tekrarlama riskini %72 oranında azalttığı gösterilmiştir. Bu çalışmada folik asit günde 4000 µg gibi yüksek bir dozda kullanılmıştır²¹. Türkiye'de yapılan bir çalışmada da daha önce NTD'li çocuk doğurmuş 321 kadının 363 gebeliği izlenmiş ve gebe kalmadan başvuran 190 kadına gebelikten sekiz hafta önce başlamak ve gebeliğin ilk sekiz haftasında kullanmak üzere günde 5 mg folik asit verildiğinde hiç rekürrens görülmemiş, tedavi almayan 173 gebeden yedisinde (% 4.04) tekrar NTD saptanmıştır²².

Gözlem şeklindeki çeşitli çalışmaların sonuçlarına dayanarak "US Public Health Service" 1992 yılında doğurgan yaştaki bütün kadınların folik asit kullanmasını veya gebe kalmayı düşünen kadınların gebelikten üç ay önce başlamak ve gebeliğin ilk üç ayında da devam etmek kaydıyla günde 400 µg folik asit almalarını önermiştir²³. Ancak plansız gebelik oranlarının yüksekliği ve bu bilgiyi bilmelerine rağmen kadınların folik asit kullanma yüzdelerinin düşük olması nedeni ile Amerika Birleşik Devletleri'nde 1 Ocak 1998 tarihinde besinlerin (tahıl) folik asitle mecburi zenginleştirilmesine başlanmıştır²³. ABD'de folik asitle zenginleştirme dozu olarak 100 gr tahılda 140 µg folik asit olacak şekilde bir doz tercih edilmiştir. Bu dozun hedef nüfusun ihtiyaçlarını karşılayacağı, hedef olmayan nüfus için de emin bir doz olacağı hesaplanmıştır. Yapılan tahminlere göre 19 yaş üstü nüfus bu şekilde günde 80-130 µg ek folik asit almaktadır. Besinlerin zenginleştirilmesi başlangıçta günde 400 µg'lık bir doza ulaşmak hedefi ile düşünülmüş ve bu dozla sağlanabilecek maksimal NTD prevalansı azalmasının %70 olabileceği hesaplanmıştır. Ancak bunun için zenginleştirilmiş besinlerle birlikte folik asit kullanımının artması ve folattan zengin besinlerin (portakal suyu, yeşil yapraklı sebzeler, fıstık, çilek gibi) alınmasının uygun olacağı belirtilmiştir. Bugün Kanada ve Şili'de de besinlerin folik asitle mecburi zenginleştirilmesi programı uygulanmaktadır²⁴.

Günümüzde NTD görülme sıklığının azaltılması için besinlerin folik asitle zenginleştirilmesinin toplum sağlığını iyileştirme bakımından çok

önemli bir yaklaşım olduğu tartışılmaz bir konudur. Bununla birlikte ek folik asidin hedef grup dışındaki kişiler için olabilecek zararlı etkileri de araştırılmakta ve tartışılmaktadır. Folik asit toksisitesi söz konusu değildir, ancak folik asit eklenmesinin, B₁₂ eksikliğinin özellikle nörolojik bulgularını maskeleyebileceği düşünülmektedir.

ABD, Hollanda, Norveç, Macaristan Avustralya gibi çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalar günde 400 µg folik asidin perikonsepsiyonel dönemde kullanıldığında NTD riskini azalttığını göstermiştir²⁴. Çin'de yapılan bir çalışmada NTD prevalansının yüksek olduğu Kuzey Çin'de 250.000 kişilik bir toplumda günde 400 µg folik asit alımı ile NTD sıklığında %80'e yaklaşan bir azalma sağlanmış olup, sıklığın daha az olduğu Güney Çin'de de daha düşük, fakat istatistiksel önemi olan bir azalma elde edilmiştir (%41)²⁵.

Meksika'da yapılan bir çalışmada düşük gelirli doğurgan yaştaki 250.000 kadının yaşadığı bir bölgede NTD doğumların tekrarının önlenmesi için daha önce böyle çocuk doğurmuş, kadınlara her gün alınmak üzere 5 mg'lık folik asit tabletleri dağıtılmıştır. Birincil korunma yapabilmek için de her kadına 5 mg'lık folik asit tabletleri dağıtılarak haftada bir almaları konusunda eğitim verilmiştir. İki yıl sonra ailede tekrar görülmemiş, anensefali ve spina bifida sıklığında %50 azalma saptanmış ve ilk yıl için maliyetin kadın başına 0.25 \$/yıl olduğu hesaplanmıştır²⁶.

ABD'de besinlerin folik asitle zenginleştirilmesinin NTD üzerindeki etkisi çeşitli çalışmalarla araştırılmıştır. Çalışmalardan birinde ortalama %19'luk bir azalma saptanmıştır²⁷. Bu azalma spina bifida'da %23, anensefali'de %11 olarak bulunmuştur. Bir başka çalışmada bu değerler sırası ile %31 ve %16 olarak bulunmuştur²⁸. Ancak her iki çalışmada da antenatal dönemde saptanan vakalar dikkate alınmamıştır.

ABD'de Caudill ve arkadaşlarının²⁹ yaptığı bir çalışma, besinlerin folik asitle zenginleştirilmesi ile doğurgan yaştaki kadınların pozitif folat dengesine geçtikleri ve kırmızı küre folat konsantrasyonlarının NTD sıklığını düşürecek düzeye geldiğini göstermiştir. Bu çalışmada bu zenginleştirmeden düşük sosyo-ekonomik düzeydeki kadınların da yararlandığı gösterilmiştir. Araştırmacı kırmızı küre ve serumdaki yüksek folat konsantrasyonunun besinlerle günde 100 µg'dan daha yüksek folik asit alındığına işaret ettiğini ifade etmiştir.

Ontario Kanada'da yapılan bir çalışmada besinlerle kişiye günde 0.2 mg ek folik asit sağlayan bir zenginleştirilme ile önce binde 1.13 olan NTD prevalansının binde 0.58'e düştüğü saptanmıştır (%47)³⁰. Kanada'da bir başka bölgede (Nova Scotiade) yapılan çalışmada bu oran %54 olarak bulunmuştur³¹.

Kanada'da yapılan bir başka çalışma besinlerin zenginleştirilmesinin yetişkin bir kişinin günlük folik asit alımında ortalama 100 µg artışa neden olduğunu göstermektedir. Bunun önerilen günde 400 µg folik asit gereksinimini karşılamaktan uzak olduğu görülmektedir³². Bu gereksinimi karşılamak için besinlerin zenginleştirilmesinin yanında folik asit tabletleri kullanımının en iyi yöntem olduğu anlaşılmaktadır. Ancak bunun gibi diğer pek çok çalışma ile de gösterildiği gibi folik asit kullanan kadınların oranını arttırmak kolay değildir. Uygulanan çeşitli programlara rağmen ABD³³, Puerto Rico³⁴, Hollanda³⁵, Batı Avustralya'da³⁶ folik asit tableti kullanan kadınların sıklığının artmadığı görülmektedir. Bu ülkelerde yapılan çeşitli çalışmalar bu oranın %30 civarında kaldığını göstermektedir. Bu artışı sağlayamama gerekçeleri arasında çeşitli çalışmalarda bilgi eksikliği, maliyet ve tableti sevmemek gibi nedenler ileri sürülmektedir.

Bu sonuçlar özellikle doktorların bu konuda halkı ve hastalarını bilgilendirmekteki rolünün önemini göstermektedir. Ayrıca kitle iletişim araçlarının da bu konudaki rolü unutulmamalı ve bu kaynağın da etkin bir şekilde kullanılması yoluna gidilmelidir. Bu nedenlerle besinlerin zenginleştirilmesi çalışmaları ile birlikte yeni eğitim stratejileri geliştirilmelidir.

Kontrollü çalışmalar perikonsepsiyonel folik asit kullanımının üriner sistem, kardiyosküler ve ekstremiteler anomalileri ile dudak ve damak yarıklarının da görülme sıklığını azalttığını göstermiştir³⁷. Ek olarak kişinin folik asit durumunun düzeltilmesi vasküler hastalıklar ve bazı kanserlerin görülme sıklığını da azaltmaktadır²⁴. Bütün bunların gözönünde tutularak ülkemizde çeşitli hastalıkların birincil korunması için besinlerin folik asit ile zenginleştirilmesi, riskli kişilerin folik asit tabletleri kullanılmasının teşviki ve folik asitten zengin besinlerin tüketilmesi eğitimlerinin verilmesi için Sağlık Bakanlığı, üniversiteler ve konu ile ilgili sivil toplum örgütleri başta olmak üzere ilgili kurumların acilen bir araya gelerek yeni bir hareket planlaması yapmaları gereğini bir defa daha hatırlatmak istiyorum.

KAYNAKLAR

1. Say B, Tunçbilek E, Balcı S, et al. Incidence of congenital malformations in a sample of the Turkish population. *Hum Hered* 1973; 23: 434-441.
2. Buckley WR, Erten S. The epidemiology of anencephaly and spina bifida in Izmir, Turkey. In the light of recent aetiological theses. *J Epidemiol Community Health* 1979; 33: 186-188.
3. Ilter Ö, Atasü T, Aksu MP. Central nervous system abnormalities in İstanbul. *Med Bull İstanbul* 1978; 11: 160-166.
4. Cavdar AO, Arcasoy A, Babacan E, et al. Zinc levels of serum, plasma, erythrocytes and hair in Turkish women with anencephalic babies. *Prog Clin Biol Res* 1983; 129: 99-106.
5. Akar N, Cavdar AO, Arcasoy A. High incidence of neural tube defects in Bursa, Turkey. *Pediatr Perinat Epidemiol* 1988; 2: 89-92.
6. Akar N, Ata Y, Aytekin AF. Neural tube defects and Chernobyl? *Pediatr Perinat Epidemiol* 1989; 3: 102-103.
7. Çağlayan S, Kayhan B, Menteşoğlu S, Aksit S. Changing incidence of neural tube defects in Aegean Turkey. *Paediatr Perinat Epidemiol* 1989; 3: 62-65.
8. Mocan H, Bozkaya H, Mocan MZ, Furtun EM. Changing incidence of anencephaly in the Eastern Black Sea Region of Turkey and Chernobyl. *Paediatr Perinat Epidemiol* 1990; 4: 264-268.
9. Mocan H, Aydemir V, Bozkaya H, Mocan MZ, Özbay G. Incidence of neural tube defects (ntd) in Ankara Turkey, prior to and after the Chernobyl disaster. *Pediatr Perinat Epidemiol* 1992; 6: 111-114.
10. Posacı C, Celiloğlu M, Karabacak O. The epidemiology of neural tube defects in İzmir, Turkey. *Int J Gynecol Obstet* 1992; 39: 135-138.
11. Güvenc H, Uslu MA, Güvenc M, Özekici U, Kocabay K, Bektaş SJ. Changing trend of neural tube defects in Eastearn Turkey. *Epidemiol Community Health* 1993; 47: 40-41.
12. Himmetoğlu O, Tıraş MB, Gürsoy R, Karabacak O, Şahin I, Onan A. The incidence of congenital malformations in a Turkish population. *Int J Gynecol Obstet* 1996; 55: 117-121.
13. Tunçbilek E, Boduroğlu K, Alikasıfoğlu M. Neural tube defects in Turkey: prevalence, distribution and risk factors. *Türk J Pediatr* 1999; 41: 299-305.
14. Hoffmann W. Fallout from the Chernobyl nuclear disaster and congenital malformation in Europe. *Arch Environ Health* 2001; 56: 479-484.
15. Molloy A, Daly S, Mills JL, et al. Thermolabile variant of 5-10 methylenetetrahydrofolate reductase associated with low red-cell folates: implications to folate intake recommendations. *Lancet* 1997; 349: 1591-1593.
16. Boduroğlu K, Alikasıfoğlu M, Anar B, Tunçbilek E. Association of the 677-CT mutation on the MTHFR gene in Turkish patients with neural tube defects. *Child Neurol* 1999; 14: 159-161.
17. Wald NJ, Cuckle HS. Biochemical screening. In: Brock DJH, Rodeck CH, Ferguson-Smith MA (eds). *Prenatal Diagnosis and Screening*. Hong-Kong: Churchill Livingstone, 1992: 563-577.
18. Chitty L, Campbell S. Ultrasound screening for fetal abnormalities. In: Brock DJH, Rodeck CH, Ferguson-Smith MA (eds). *Prenatal Diagnosis and Screening*. Hong-Kong: Churchill Livingstone, 1992: 595-609.
19. Hibbard ED, Smithells RW. Folic acid metabolism and human embryopathy. *Lancet* 1968; 1: 1254.
20. Smithells RW, Nevin NC, Seller MJ, et al. Further experience of vitamin supplementation for prevention of neural tube defect recurrence. *Lancet* 1983; 1: 127-131.
21. MRC Vitamin Study Research Group. Prevention of the neural tube defects: results of the Medical Research Council Vitamin Study. *Lancet* 1991; 338: 131-137.
22. Aydın K, Çağdaş A, Kayserili H, Tükel T, Eriş H, Apak MY. The effect of preconceptional folic acid treatment on the recurrence risk of nonsyndromic neural tube defects. *Br J Med Genet* 1998; 1: 120-124.
23. Food and Drug Administration. Food Standards of Identity for Enriched Grain Products to Require Addition of Folic Acid. Final Rule 21 CFR Parts 136, 137 and 139 1996; 131: 3702-3737.
24. Bailey LB, Rampersand GC, Kanwell GP. Folic acid supplements and fortification affect the risk for neural tube defects, vascular disease and cancer: evolving science. *J Nutr* 2003; 133: 1961S-1968S.
25. Berry RJ, Li Z, Erickson JD, et al. Prevention of neural tube defects with folic acid in China. *N Eng J Med* 1999; 341: 1485-1490.
26. Villarreal LM, Perez JZ, Vazquez PA, Herrera RH, Campos MA. Decline of neural tube defects cases after folic acid campaign in Nuevo-Leon, Mexico. *Teratology* 2002; 66: 249-256.
27. Honein MA, Paulozzi LJ, Mathews TJ, Erickson JD, Wong L-YC. Impact of folic acid fortification of the US food supply on the occurrence of neural tube defects. *JAMA* 2001; 285: 2981-2986.
28. Williams LJ, Mai CT, Edmonds LD, et al. Prevalence of spina bifida and anencephaly during the transition to mandatory folic acid fortification in the United States. *Teratology* 2002; 66: 33-39.
29. Caudill MA, Thia Le MS, Moonie SA, Setareh Torabian Esfahani MS, Cogges EA. Folate status in women of childbearing age residing in Southern California after folic acid fortification. *J Am Coll Nutr* 2001; 20: 129-134.
30. Ray JG, Meier C, Vermeulen MJ, Boss S, Wyatt PR, Cole DE. Association of neural tube defects and folic acid food fortification in Canada. *Lancet* 2002; 360: 2047-2048.
31. Persad VL, Vanaden Hof MC, Dube JM, Zimmer P. Incidence of open neural tube defects in Nova Scotia after folic acid fortification. *Can Med Assoc J* 2002; 167: 241-245.
32. French MR, Barr SI, Levy-Milne RY. Folate intakes and awareness of folate to prevent neural tube defects: a survey of women living in Vancouver, Canada. *J Am Diet Assoc* 2003; 103: 181-185.

33. March of Dimes Birth Defects Foundation. Folic Acid and The Prevention of Birth Defects. A National Survey of Pre-pregnancy Awareness and Behavior Among Women of Childbearing Age 1995-2000. March of Dimes. Birth Defects Foundation 2002 White Plains. NY.
34. De La Vega A, Salicrup E, Verdiales MA. Nationwide program for the use of preconceptional folic acid to prevent the development of open neural tube defects. Who is really using folic acid? Puerto Rico Health Sci J 2002; 21: 7-9.
35. De Walle HE, Jong-van den Berg LT. Insufficient folic acid intake in the Netherlands: What about the future? Teratology 2002; 66: 40-43.
36. Miller M, Bower C, Payne J, Serna P. Folate related knowledge and practices of Western Australian women before and during pregnancy. Teratology 2000; 62: 367.
37. Czeizel AE. Primary prevention of neural tube defects and some other major congenital abnormalities: recommendations for the appropriate use of folic acid during pregnancy. Paediatr Drugs 2000; 2: 437-449.