

IPEROMOCISTEINEMIA : ASPETTI NUTRACEUTICI DEI FOLATI

Caramia G.

Primario Emerito di Pediatria e Neonatologia

Azienda Ospedaliera Materno-Infantile "G. Salesi" – Ancona

www.bambinoprogettosalute.it

Introduzione e vie metaboliche

Alcune malattie dell'età evolutiva sono causate da mutazioni di geni che codificano proteine specifiche con conseguente alterazione della struttura e/o della quantità di proteina sintetizzata. Ne derivano degli *errori congeniti del metabolismo* in quanto, la capacità funzionale della proteina, sia essa un elemento strutturale o un enzima, o un recettore, o un veicolo di trasporto, o una pompa di membrana, può essere più o meno compromessa.

Molte mutazioni genetiche sono prive di conseguenze e determinano solo quel polimorfismo che differenzia gli individui. Altre volte gli errori congeniti del metabolismo che ne derivano danno luogo ad una sintomatologia o ad uno stato di malattia variabile, da molto lieve a letale, nella prima infanzia o nell'età evolutiva o più tardi ancora nel giovane adulto e nell'anziano.

Una tale situazione si può verificare anche nel ciclo metabolico dell'aminoacido essenziale metionina. Questa, introdotta con alcuni alimenti quali carne, uova, latte, ma anche fagioli e legumi vari nella quantità di circa quattro grammi/die per la perdita di un gruppo metilico dà luogo alla formazione di circa 26 mmoli di omocisteina attraverso l'attivazione della metionina ad adenosilmetionina (SAME), donatore universale del gruppo metilico, che ceduto il metile produce adenosilomocisteina la quale per idrolisi libera omocisteina e adenosina.

L'omocisteina può essere a sua volta trasformata di nuovo in metionina attraverso un processo di rimetilazione. Questa reazione risparmiatrice di metionina è catalizzata dall'enzima metionina sintetasi (MS) che richiede il 5 metil-tetraidrofolato (MTHF) come substrato e la metilcobalamina come cofattore per trasferire il gruppo metilico del MTHF all'omocisteina: si formano così metionina e tetraidrofolato (THF). Il ciclo tende a conservare metionina che, nella forma attivata (SAME), è il maggior donatore di metili per DNA, RNA, etc. (1,2).

A livello epatico, dove il metabolismo della metionina è particolarmente attivo, oltre all'enzima folato-dipendente è presente un altro enzima che produce per metilazione metionina da omocisteina: è una metiltransferasi che utilizza come donatore di metili la betaina o trimetilglicina.

Se la metionina è introdotta in eccesso viene inibita la metionina sintetasi, per ridurre la sintesi di metionina, e si attiva, con una serie di reazioni di transulfurazione irreversibile ad opera di due enzimi vitamina B6 dipendenti, la Cistationina- -sintasi e la -Cistationasi, per formare cistationina e cisteina (Fig.1). L'omocisteina presente nel sangue e nelle urine può essere libera, sotto forma di dimero o legata alle proteine. Si intende per omocisteinemia il valore totale nel plasma delle varie forme di omocisteina. Nel sangue il valore normale è di 5-12 micro mol/L. Per valori compresi fra i 12-30 micro mol/L si parla di lieve iperomocisteinemia, per valori fra 30-100 micro mol/L si parla di iperomocisteinemia moderata, per valori superiori ai 100 micro mol/L si parla di grave iperomocisteinemia (1,2).

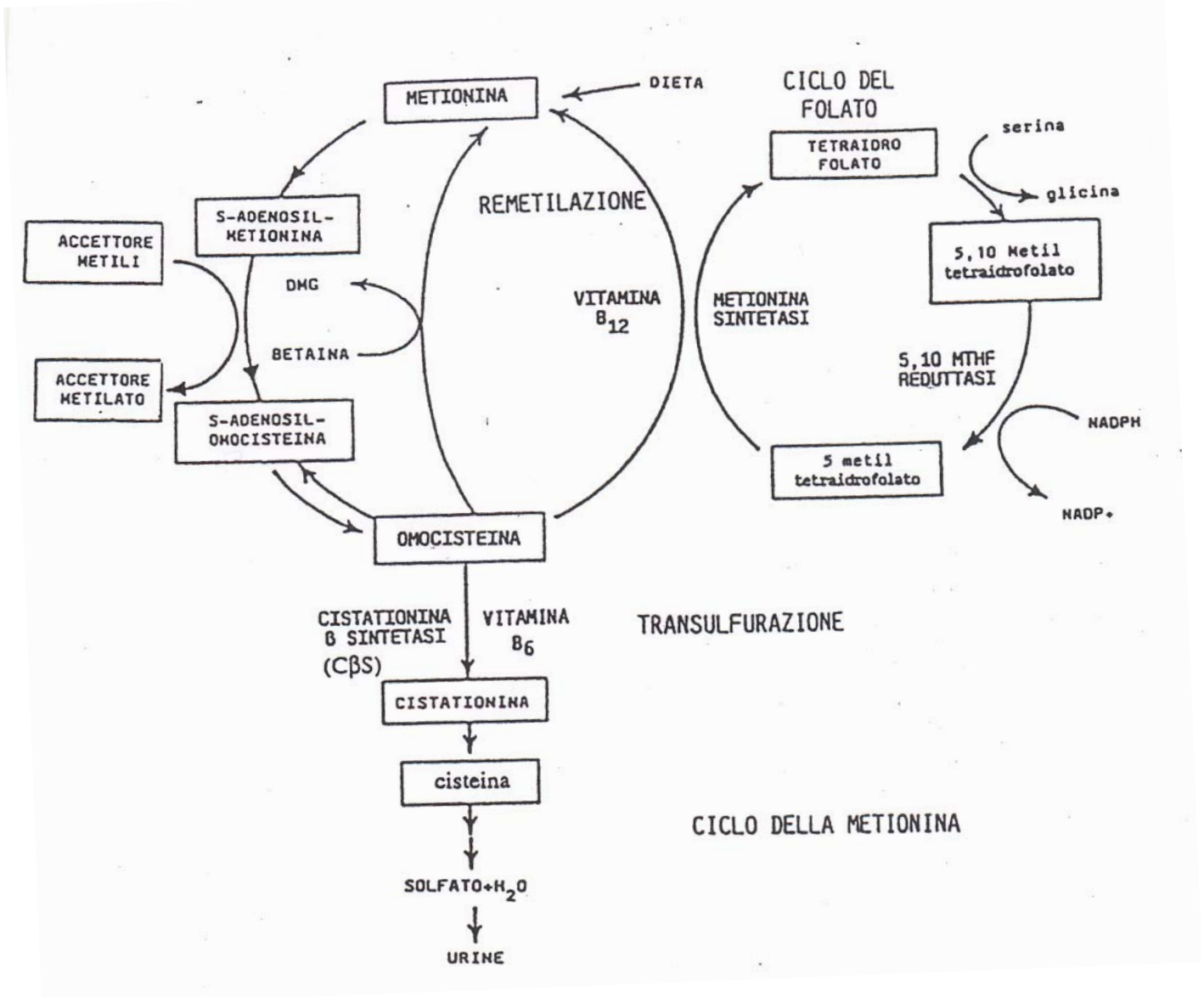
Le iperomocisteinemie

Omocistinuria dovuta a deficit di cistationina- -sintetasi (C S): (Omocistinuria tipo I o classica)

La carenza di questo enzima dà luogo ad una malattia ereditaria a trasmissione autosomica recessiva a carico del metabolismo della metionina. In base ai dati epidemiologici l'incidenza della malattia è di 1:344.000 nati vivi ma in alcune regioni (Australia) è stata riferita una prevalenza più alta.

Il deficit di cistationina beta-sintasi, enzima che, con la vitamina B6 come cofattore, converte l'omocisteina in cistationina nella via metabolica della trans-sulfurazione del ciclo della metionina, oltre all'aumento dell'omocisteina (>100 m/L) determina anche aumento della metionina nel sangue ed omocistinuria: le urine però devono essere esaminate appena emesse, dato che è instabile e può scomparire. Il gene per la cistationina- -sintetasi è localizzato sul braccio lungo del cromosoma 21 e i portatori eterozigoti sono abitualmente asintomatici.

Fig. 1



I bambini affetti da questa malattia sono normali alla nascita, hanno frequentemente pigmentazione chiara, occhi azzurri ed un peculiare arrossamento degli zigomi. La diagnosi viene posta di solito dopo i 3 anni, quando compare la sublussazione del cristallino (*ectopia lentis*) che provoca grave miopia e successivamente astigmatismo, glaucoma, cataratta, distacco retinico e atrofia ottica. L'osteoporosi generalizzata è il principale reperto radiologico. Frequente è un progressivo ritardo mentale, convulsioni (20% circa dei casi), turbe psichiatriche (50%): è stata però riscontrata un'intelligenza normale in pazienti responsivi alla vitamina B6.

Sono frequenti gli episodi tromboembolici che interessano sia i grandi che i piccoli vasi, specialmente quelli cerebrali che possono comparire a qualsiasi età. Atrofia ottica, paralisi,

convulsioni, cuore polmonare ed ipertensione grave (secondaria a infarti renali) sono tra le gravi conseguenze della tromboembolia (3,4). Questa è dovuta a modificazioni delle pareti vascolari e ad un'aumentata attivazione piastrinica secondaria ad elevati livelli di omocisteina (5). Il rischio di tromboembolia aumenta in seguito ad interventi chirurgici.

Accanto alla forma omozigote rarissima e grave, ha un impatto di un certo rilievo l'eterozigosi per il deficit di CBS che si riscontra in circa lo 0.5% della popolazione generale (4) e l'eterozigosi per la mutazione della CBS 844ins68, presente nel 10-15% della popolazione generale (6,7) (Tab.1). Quest'ultima però si associa ad iperomocisteinemia se coesistono altre alterazioni genetiche o acquisite.

La *diagnosi* si può stabilire mediante il dosaggio dell'enzima in campioni di biopsia epatica, in fibroblasti coltivati o linfociti stimolati con fitoemoagglutinina mentre la diagnosi prenatale è attuabile eseguendo un dosaggio enzimatico sulle colture di cellule amniotiche o su villi coriali.

Alte dosi di vitamina B6 (200-1000 mg/die) determinano un notevole miglioramento nei pazienti responsivi a questa terapia. Tali soggetti, che sono circa il 40%, possiedono un'attività enzimatica residua e, di solito, presentano manifestazioni cliniche più lievi. Alcuni all'inizio della terapia possono non rispondere per la grave deplezione di folati; pertanto un paziente non dovrebbe essere considerato non responsivo alla vitamina B6 finché non sia stato aggiunto acido folico (5-15 mg/die) allo schema di trattamento. La restrizione dell'apporto di metionina, unitamente alla supplementazione di cisteina, è raccomandata per tutti i pazienti, indipendentemente dalla loro risposta alla vitamina B6. La betaina (trimetilglicina, 6-9 g/die, aggiustando la dose ai livelli plasmatici di omocisteina) serve come donatore di gruppi metilici per rimetilare l'omocisteina a metionina e quindi per ridurre i livelli di omocisteina nei fluidi corporei.

Questo trattamento ha prodotto un miglioramento clinico nei pazienti non responsivi alla terapia con vitamina B6. Un precoce trattamento con vitamina B6 di pazienti affetti dalla forma non responsiva ha determinato effetti molto favorevoli anche sul QI (1,2).

Omocistinuria da difetti nella formazione di metilcobalamina (Omocistinuria tipo II).

La carenza di questo enzima dà luogo ad una malattia ereditaria a trasmissione autosomica recessiva di natura ancora ignota, dovuta a difetti nel metabolismo intracellulare della cobalamina, cofattore dell'enzima metionina sintetasi, che interferiscono sulla formazione di metilcobalamina e quindi della metionina. I cinque difetti identificati sono indicati come **cbl C**, **cbl D**, **cbl E**, **cbl F** e **cbl G**. I pazienti con i difetti **cbl E** e **cbl G** sono incapaci di formare metilcobalamina e presentano omocistinuria. Quelli con i difetti **cbl C**, **cbl D** e **cbl F** hanno associata omocistinuria ed aciduria metilmalonica perché è compromessa sia la formazione di metilcobalamina sia di adenosilcobalamina. Tutti presentano ipometioninemia, che li differenzia dal deficit di cistationina beta sintetasi, anemia megaloblastica e omocistinuria.

Il quadro clinico è caratterizzato spesso da vomito, inappetenza, letargia, ipotonia e ritardo dello sviluppo psicomotorio che possono comparire nei primissimi mesi di vita.

La *diagnosi* si effettua mediante adeguati studi su fibroblasti coltivati. Per la diagnosi prenatale si ricorre a studi su colture di cellule amniotiche.

Il *trattamento* con vitamina B12, in forma di idrossicobalamina (1-2 mg/die), è in grado di correggere i segni clinici e biochimici con risultati che variano nell'ambito di entrambe le malattie (1,2). A volte può risultare di una qualche utilità la betaina come su riportato.

Omocistinuria da deficit di 5-10 metilentetraidrofolato reduttasi (Omocistinuria tipo III).

L'enzima metilentetraidrofolato reduttasi (MTHFR) riduce il 5-10 metilentetraidrofolato a formare 5-metiltetraidrofolato che fornisce il gruppo metilico necessario alla cobalamina. Questa, una volta metilata funge da cofattore cedendo il gruppo metilico per la rimetilazione dell'omocisteina a metionina. Il gene per questo enzima è localizzato sul braccio corto del cromosoma 1. Questa patologia è trasmessa con modalità autosomica recessiva e costituisce il 5-10% di tutti i casi di omocistinuria.

Allo stato omozigote, (1 caso ogni 3.355.000 nati) la gravità del difetto enzimatico e delle manifestazioni cliniche è variabile. Non raramente l'assenza completa dell'attività enzimatica si traduce in episodi di apnea neonatale e convulsioni miocloniche che possono condurre rapidamente a coma e morte. In altri casi sono frequenti ritardo mentale, convulsioni, microcefalia, spasticità e malattie vascolari ad insorgenza precoce.

Il deficit parziale interessa lo 0,5% della popolazione generale e può esprimersi con un quadro clinico molto variabile. Inoltre recentemente sono state individuate varie mutazioni fra cui la mutazione C677T della 5,10-metilentetraidrofolato-reduttasi (MTHFR), associata a termolabilità dell'enzima ed attività ridotta all'incirca del 50%, con prevalenza omozigote dal 5 al 20 % nelle popolazioni caucasiche studiate (7-12) (Tab.1).

In tutti i casi ora riportati, il quadro ematologico è caratterizzato da bassi livelli di metionina, ai limiti inferiori della norma e un moderato aumento della omocisteina nel sangue e nelle urine. Questo dato differenzia la malattia dall'omocistinuria classica dovuta a deficit di cistationina sintetasi mentre l'assenza di anemia megaloblastica distingue questa condizione dall' omocistinuria dovuta a formazione di metilcobalamina su riportata. La conferma diagnostica si ottiene però solo con il dosaggio dell'enzima su biopsia epatica, fibroblasti coltivati e leucociti.

I trattamenti proposti sono un'associazione di folato, nella forma di 5-metiltetraidrofolato ove disponibile, cioè nella forma ridotta utilizzata dall'organismo, vitamina B6 e vitamina B12 con supplementazione di metionina e betaina, e il trattamento precoce con betaina che sembra dare i migliori risultati (1,2).

TAB. I - Fattori che influenzano la concentrazione ematica di omocisteina

GENETICI

anomalie di transulfurazione: difetto di cistationina Beta-sintetasi (cromosoma 21):
omozigote: 1/340.000 nati
eterozigote: 0,5% popolazione
mutazione eterozigote 844ins68: 10-15% popolazione
generale solo se associata ad altri fattori;

anomalie di rimetilazione: difetto di 5-10-metilentetraidrofolato reduttasi (MTHFR):
omozigote: 1/3.350.000 nati
eterozigote: 0,5% popolazione;
variante termolabile della MTHFR C677T (50% di attività):
omozigote: 5-20% popolazione;
difetto di metionina-sintetasi A2756G;
difetto conversione cobalamina a metil-cobalamina (cbl C,D,E,F,G);

ETA/SESSO

Aumenta con l'età;
Sesso maschile;
Postmenopausa nella donna.

NUTRIZIONALI

deficit di folato, vitamina B₁₂: causa più frequente specie nell'anziano;
deficit di vitamina **B₆** ;
eccessivo consumo di caffè ed alcol.

MALATTIE

Intestinali: malassorbimento Vit. B₁₂ ;
Renali: ridotta escrezione da insufficienza renale;
Psoriasi: per riduzione dei folati;
Leucemia linfoblastica, alcune neoplasie, insufficienza renale cronica e trapianto renale;
Ipotiroidismo;
Diabete;
Ipertensione essenziale.

FARMACOLOGICI

Metotrexate: deplezione di 5-metil-tetraidrofolato;
nitriti: antagonizzano la vitamina B₁₂;
estrogeni: causano deficit di vitamina **B₆**;
diuretici;

anticonvulsivanti, carbamazepina, isoniazide e fentoina: interferiscono con i folati.

FARMACI CHE RIDUCONO L'OMOCISTEINA

N-acetilcisteina, penicillamina (analogo della cisteina).

Recentemente è stato messo a punto una metodica, molto rapida, capace di tipizzare il polimorfismo di 12 genotipi coinvolti nel metabolismo dei folati e dell'omocisteina e precisamente: MTHFR C677T ed A1298C, methionine synthase (MTR) A2756G, methionine synthase reductase (MTRR) A66G, cystathionine beta-synthase (CBS) 844ins68 e C699T, transcobalamina II (TCII) C776G e A67G, reduced folate carrier-1 (RFC1) G80A, paraoxonase-1 (PON1) A575G e T163A, betaine homocysteine methyltransferase (BHMT) G742A. La metodica può facilitare studi su larga scala circa le basi genetiche dell'omocisteinemia e delle patologie associate (12).

Omocisteina e Folati

L'associazione iperomocisteinemia e patologia vascolare, riscontrata frequentemente nei sia pur rari difetti metabolici congeniti allo stato omozigote, ha spinto vari ricercatori, fin dagli anni '60, ad approfondire e ricercare se e quali rapporti potevano esistere fra iperomocisteinemia e rischio di patologia vascolare (3,4).

E' così emerso che almeno il 20-30% dei pazienti con aterosclerosi prematura dei distretti coronarico, carotideo e periferico presenta una iperomocisteinemia moderata, che livelli plasmatici di omocisteina elevati, contribuiscono per almeno il 10% al rischio trombotico della popolazione generale (13), con possibile sinergismo in associazione ad altri fattori di rischio, come il fumo di sigaretta e l'ipertensione arteriosa (14). Ciò ha destato grande interesse anche perché studi retrospettivi caso-controllo, cross-sezionali e metanalisi, pur richiedendo ulteriori conferme, hanno evidenziato un incremento del rischio correlato all'iperomocisteinemia da 2 a 6 volte per la patologia arteriosa e di circa 2,5 volte per quella venosa (13-16)

Inoltre sono ormai noti gli stretti rapporti tra livelli plasmatici di omocisteina e folati (11,17,18), tanto che il riscontro di iperomocisteinemia va considerato un indice di carenza di folato da insufficiente apporto o assorbimento. Questo è dovuto allo scarso consumo di vegetali crudi, non raro oggi nella II-III infanzia, ed è particolarmente frequente nei soggetti anziani. Tale carenza subclinica di folati da insufficiente apporto, talora si associa ad un alterato assorbimento per malattie infiammatorie croniche intestinali o interferenze farmacologiche (metotrexate, anticonvulsivanti) e, nei soggetti omozigoti per la mutazione MTHFR C677T con ridotta funzione enzimatica, per la maggiore richiesta di folati perché la via della rimetilazione funzioni adeguatamente (11,12,17). Tale deficit può essere riportato alla normalità o incrementando l'apporto dietetico o con supplementazioni farmacologiche, con conseguente riduzione o normalizzazione dei livelli plasmatici di omocisteina.

Per molte delle condizioni patologiche su riportate ed in particolare per la malattia vascolare aterosclerotica, l'iperomocisteinemia è considerata un nuovo fattore di rischio oltre a quelli già noti: iperlipidemia, ipertensione, obesità, diabete, abuso di fumo.

Per quanto attiene all'acido folico o acido pteroil-glutammico o vitamina B9, già negli anni '30 la Lucy Willis aveva evidenziato che l'anemia macrocitica della gravida poteva trarre giovamento da un principio attivo presente nel lievito.

Nel 1941 fu isolato un composto capace di prevenire tale patologia che fu chiamato acido folico in quanto derivato dalle foglie degli spinaci: la struttura molecolare e la sintesi furono realizzate nel 1943 da Strokstad (19-21).

Successivamente è stato evidenziato che composti con 3 o 7 molecole di acido glutammico (acido pteroil-triglutammico e acido pteroil-eptaglutammico) costituiscono il 75% dell'apporto alimentare di acido folico, sono biologicamente attivi ma devono subire una idrolisi a pteroil-monoglutammico prima di essere assorbiti per cui con il termine "folati", si intende una serie di composti strutturalmente correlati con l'acido pteroilglutammico o acido folico che rappresentano un principio vitaminico della grande famiglia del complesso vitaminico B.

Per molti anni dopo la sua scoperta, l'acido folico presente nelle verdure a foglia verde come gli spinaci ma anche nel fegato, carne, uova, asparagi, pomodori, fagioli, legumi vari, arance,

dependente, epilessia in trattamento con acido valproico o carbamazepina), dovrebbero essere avvertite di assumere una supplementazione di acido folico di 4-5mg/die separatamente dal multivitaminico. Attenzione deve inoltre essere posta al rischio di un deficit latente di Vitamina B12 prima di iniziare la terapia (26). Campagne di informazione devono essere realizzate per promuovere il consumo di acido folico rivolto in particolare alle giovani non sposate, obese, fumatrici, che consumano limitate quantità di frutta e verdura e che hanno un basso livello di istruzione (27).

Nel corso degli anni e grazie a numerose indagini, altre potenziali manifestazioni da carenza di folato sono emerse quali: l'iperomocisteinemia con un aumento significativo di malattie vascolari occlusive (28), già segnalate nei gravi casi di omocistinuria, alcune crisi convulsive neonatali intrattabili e responsive solo all'acido folico (29), disturbi neuropsichiatrici di tipo depressivo (30) del giovane adulto, neuropatie periferiche, degenerazione subacuta combinata del midollo spinale, demenza di Alzheimer (31), malattia di Parkinson, lo sviluppo di alcuni tipi di neoplasie e la comparsa di alterazioni preneoplastiche a carico degli epiteli gastrointestinale, della cervice uterina e del polmone (32-34).

Da quanto fin qui esposto appare evidente che la carenza di folati, un tempo considerata responsabile solo di una particolare forma di anemia, è ora riconosciuta come fattore determinante molteplici condizioni patologiche.

Aspetti fisio-patologici

I meccanismi patogenetici del danno vascolare legato all'iperomocisteinemia non sono ancora del tutto chiari. Alcuni ricercatori hanno evidenziato in pazienti omocistinurici la presenza di una condizione di stress ossidativo, con conseguente aumentata escrezione urinaria di isoprostani, correlata ad un'attivazione piastrinica in vivo (valutata dall'escrezione di metaboliti del trombossano), che sarebbe stata ridotta significativamente dalla somministrazione di vitamina E (35). Altri studiosi inoltre avrebbero evidenziato una aumentata produzione di radicali liberi dell'ossigeno secondaria all'auto-ossidazione dell'omocisteina nel plasma, con conseguente perossidazione lipidica a livello delle membrane e delle lipoproteine circolanti, disfunzione endoteliale, attivazione piastrinica e ipercoagulabilità, tutti meccanismi pro-aterogeni e pro-trombotici (36,37).

Sempre in ambito sperimentale, è stato più recentemente confermato che l'iperomocisteinemia determina una aumentata produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) ma anche una ridotta formazione di L-arginina e di ossido nitrico (NO), con conseguente formazione di superossido (O_2^-) (38).

In uno studio clinico randomizzato contro placebo, volto a valutare la funzione endoteliale attraverso la dilatazione flusso mediata, l'effetto deleterio sulla struttura vascolare sarebbe determinato da una aumentata produzione di superossido (O_2^-) attraverso un meccanismo biochimico che coinvolge l'ossido nitrico e, in minor misura, dall'ossidazione chimica dell'omocisteina. L'aumento del superossido danneggerebbe inoltre la funzione degli enzimi cellulari antiossidanti quali la glutatione perossidasi e la superossido dismutasi extracellulare con peggioramento del danno ossidativo (39).

L'iperomocisteinemia pertanto indurrebbe un danno vascolare per stress ossidativo in quanto aumenta le ROS e, almeno in parte, riduce la produzione di NO a livello endoteliale vasale (40).

E' stato infatti evidenziato che l'omocisteina in condizioni normali reagisce con l'ossido nitrico (NO), fattore di rilassamento endoteliale e principale determinante delle proprietà antiaterosclerotiche dell'endotelio, formando un nitroso-tiolo dotato di attività vasodilatatrice che prolunga la breve azione dell'NO. La biosintesi di NO si realizza ad opera dell'enzima "ossido nitrico-sintetasi" (eNOS) che a sua volta regola il tono vascolare (41,42).

In condizioni di stress ossidativo però, la struttura dell'enzima eNOS si altera e diventa produttore di anione superossido (O_2^-) che sottrae NO, già deficitario, per produrre perossinitrito, ossidante altamente citotossico. Inoltre un eccesso di omocisteina non è più totalmente neutralizzata da NO, subisce il processo di autossidazione ad omocistina, che genera nel contempo i prodotti reattivi dell'ossigeno. Lo stress ossidativo innesca la inversione di eNOS da produttore di NO a generatore di anione superossido O_2^- , accentuando lo stress ossidativo (34,41-42).

L'esposizione all'omocisteina dell'endotelio vasale risulta pertanto lesivo, per l'azione diretta sull'endotelio e sulla parete vasale con marcato effetto aterogeno, ma anche per l'azione sulle piastrine, con aumento della adesività ed aggregabilità piastrinica e per l'azione sui fattori della coagulazione e sulle lipoproteine con riduzione dell'attività dell'antitrombina III, riduzione dell'attivazione della proteina C, attivazione del fattore VII, riduzione dell'attività del PTA. Anche l'ossidazione delle LDL, la formazione del composto omocisteina-tiolattone la cui sintesi è proporzionata ai livelli di omocisteina, e la formazione di omocistamina-LDL svolgono un'azione tossico-aterogena di tipo ossidativo sull'endotelio vasale (43,44).

La somministrazione di folato, in particolare nella forma di 5-metiltetraidrofolato, cioè nella forma ridotta utilizzata dall'organismo, a dosi fisiologiche pari a 0,1-4 mg/die riduce l'iperomocisteinemia - mentre a dosi superiori, secondo alcuni comprese fra i 15-50 mg (34, 45-47) sembra migliorare la disfunzione endoteliale in quanto oltre a regolare i livelli di omocisteina, stabilizza l'enzima eNOS mediante una specifica azione antiossidante, riporta l'eNOS alla struttura corretta aumentando la sua produzione di NO, e riduce la produzione dell'anione superossido da parte dell'eNOS (48-54). Secondo alcuni poiché l'emivita del 5-metiltetraidrofolato nell'organismo umano è molto lunga, si potrebbe ricorrere ad una terapia intermittente costituita da un mese di trattamento a 15 mg/die ogni 2 o 3 mesi di pausa (34,55,56). Va però rilevato che deve essere usato il folato nella forma di 5-metiltetraidrofolato, cioè nella forma utilizzata dall'organismo che offre il vantaggio di una biodisponibilità maggiore. Inoltre è meno soggetta a variabilità interindividuale rispetto all'acido folico, supera il problema del mascheramento di una carenza sub-clinica di vitamina B12, possibile con l'acido folico che, essendo metabolizzato direttamente da didrofolato a tetraidrofolato, "by-passa" la tappa di conversione del 5-MTHF a tetraidrofolato che richiede vitamina B12. Infine previene l'accumulo della forma di acido folico pteroilmonoglutamato che potrebbe svolgere effetti avversi su alcuni metabolismi in cui l'acido folico è coinvolto (57).

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Il folato o "Vitamina B9", dal momento della sua scoperta come fattore protettivo contro l'anemia macrocitica, ha, nel corso degli anni, stimolato l'interesse di numerosi studiosi. È stato così evidenziato non solo il suo coinvolgimento nelle reazioni di sintesi degli acidi nucleici (DNA e RNA) e la sua stretta correlazione con la vitamina B12, ma anche nelle malattie vascolari tromboemboliche, nelle malattie cardiovascolari, associato secondo alcuni alla vitamina B12 (58-60), nella depressione (30), molto verosimilmente nella demenza senile e nell'Alzheimer (31,61-63), in alcune forme neoplastiche dell'intestino (64) ecc. Il suo deficit nell'insorgenza delle anomalie del tubo neurale, oramai noto da tempo, ha determinato, in alcune nazioni, la fortificazione delle farine di più comune impiego per aumentare, in tutta la popolazione comprese le donne con possibile gravidanza non programmata (50%), i bassi livelli nell'organismo di tale vitamina secondari soprattutto allo scarso consumo di legumi, vegetali e frutta.

Infatti mangiando normalmente pasta, riso, pane, carne, pesce, uova, latte, si introducono circa 100 microgrammi di acido folico: devono pertanto essere introdotti altri 300 microgrammi circa per soddisfare il fabbisogno del soggetto normale. In tale condizione è sufficiente mangiare a pranzo una porzione di insalata tipo lattuga (70 g = 45 mcg) e una porzione di zucchine a cena (300 g = 156 mcg), oppure una porzione di insalata mista a pranzo (80 g = 15 mcg) e una porzione di spinaci a cena (250 g = 375 mcg) per mantenere livelli sierici di 5-10 nanogrammi/ml in forma di acido metil-tetraidrofolico (Tab.2). Non sempre però questo avviene e condizioni di deficit di acido folico, con conseguente iperomocisteinemia, si verificano inoltre per assunzioni di farmaci quali fenitoina, barbiturici, anticoncezionali, diarrea grave e/o cronica, processi infiammatori e/o malassorbimento intestinale, aumentato fabbisogno come nella gravidanza, nelle malattie emolitiche, nelle emorragie, nelle leucemie o malattie mieloproliferative, nelle cirrosi epatiche, ecc. e molto verosimilmente nel soggetto anziano per ridotto apporto o scarso assorbimento.

Attualmente il nesso causale tra iperomocisteinemia moderata e danni vascolari è ipotizzabile in base ad un gran numero di dati epidemiologici (15, 28,65,66) ma sarà definitivamente provato da una serie di studi prospettici, randomizzati, in doppio cieco, di intervento con

folato e altre vitamine del gruppo B, che sono tuttora in corso e si propongono di verificare se il supplemento di folato è in grado di prevenire i danni vascolari (28). Questi studi sono stati pianificati alcuni anni fa quando si riteneva che l'intervento del folato fosse limitato all'abbassamento dell'omocisteina, ma ora è noto che il folato può migliorare la funzione endoteliale, e quindi esplicare azione antiaterosclerotica, con meccanismi indipendenti dall'omocisteina (48-52). Ma la dose di folato che consente di migliorare la funzione endoteliale è generalmente superiore a quella sufficiente per controllare l'omocisteina (45,46,49,50). Ora, nei grandi trials in corso, la dose di folato varia da 0,4 a 2 mg, sufficiente per abbassare l'omocisteina ma non idonea ad esplicare una piena azione sulla funzione endoteliale. Quindi questi studi potrebbero essere inconclusivi se risultasse che l'intervento con folato abbassa l'omocisteina ma non risolve la mortalità e morbilità vascolare, perchè la dose di folato è stata calibrata sull'azione di riduzione dell'omocisteina e non sull'effetto di miglioramento della funzione endoteliale (67).

Nel frattempo il provvedimento di fortificare le farine con folato per prevenire i disturbi di chiusura del tubo neurale coinvolge oltre 400 milioni di persone nel continente americano. Questo esteso campione (6% della popolazione mondiale) potrà fornire dati utili non solo sulla prevenzione dei disturbi del tubo neurale ma anche sulla prevenzione di malattie croniche altamente invalidanti e considerate tra le prime cause di morte nei paesi industrializzati come i disturbi cardiovascolari, l'ictus, la demenza e alcune forme di neoplasia.

I folati quindi rientrano nell'ambito dei functional foods o dei "nutrigenomics" in quanto condizionando il polimorfismo di singoli nucleotidi di parecchi geni condizionano il rischio e/o la protezione di alcune patologie.

La fortificazione con un composto che non è un coenzima naturale può però dar luogo, a lungo termine, ad effetti biologici indesiderati anche gravi, come rilevato recentemente (57). Somministrando la forma naturale attiva dell'acido folico, cioè il MTHF, tale evenienza non si verifica, si possono usare dosi elevate (15 mg di MTHF) che svolgono azione terapeutica e si possono superare tranquillamente la dose di 1000 microgrammi/die indicato dalla FDA al di sopra del quale con l'ac folico può esservi anche il rischio di mascheramento dei danni conseguenti ad un'eventuale carenza di vitamina B12 (68).

BIBLIOGRAFIA

- 1 - Rezvani I.: Metionina. in Nelson: Trattato di Pediatria. Edizioni Minerva Medica. XVI Ed. 2002; X-82.3: 350-52.
- 2 - Mudd SH, Levy HL, Kraus J.: Disorders of Transsulfuration. In: The metabolic & molecular bases of inherited Diseases VIII Ed. Mc Grow Hill 2001; 88: 2008-48
- 3 - McCully KS.: Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. Am J Pathol 1969; 56:11-28.
- 4 - Mudd SH, Skovby R, Levy HL, et al.: The natural history of homocystinuria due to cystathionine-Beta-synthase deficiency. Am J Hum Genet 1985; 37:1-31.
- 5 - Davì G, Di Minno G, Coppola A, et al.: Oxidative Stress and Platelet Activation in Homozygous Homocystinuria. Circulation. 2001;104:112-4
- 6 - Sebastio G, Sperandio MT, Panico M, et al.: The molecular basis of homocystinuria due to cystathionine-Beta-synthase deficiency in Italian families and report of four novel mutations. Am J Hum Genet 1995; 56:1324-33.
- 7 - Coppola A, De Simone C, Coppola D, et al.: Omocisteina, folati e patologia tromboembolica. Riv.It.Ost.Gin. 2004; 1: 13-19.
- 8 - Frosst P, Blom HJ, Milos R, et al.: A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. Nat Genet 1995; 10:111-3.
- 9 - de Franchis R, Mancini FR, D'Angelo A, et al.: Elevated total plasma homocysteine and 677-> T mutation of 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase gene in thrombotic vascular disease. Am J Hum Genet 1996; 59:262-4
- 10 - D'Angelo A, Coppola A, Madonna P, et al.: The role of vitamin B12 in fasting hyperhomocysteinemia and its interaction with the homozygous C677T mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene. A case-control study of patients with early-onset thrombotic events. Thromb Haemost 2000; 83:563-70.

- 11 - De Franchis R, Fermo I, Mazzola G, et al.: Contribution of the cystathionine beta-synthase gene (844ins68) polymorphism to the risk of early-onset venous and arterial occlusive disease and offasting hyperhomocysteinemia. *Thromb Haemost* 2000; 84: 576-82.
- 12 - Meyer K, Fredriksen A, Ueland PM.: High-level multiplex genotyping of polymorphisms involved in folate or homocysteine metabolism by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. *Clin Chem*. 2004; 50:391-402.
- 13 - Motulsky A.: Nutritional ecogenetics: homocysteine-related arteriosclerotic vascular disease, neural tube defects and folic acid. *Am J Hum Genet* 1996; 58:17-20.
- 14 - Graham IM, Daly LE, Refsum HM, et al.: Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: the European Concerted Action Project. *JAMA* 1997; 277:1775-81.
- 15 - Boushey CJ, Beresford SAA, Omenn GS, et al.: A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995; 274:1049-57.
- 16 - den Heijer M, Rosendaal FR, Blom HJ et al.: Hyperhomocysteinemia and venous thrombosis: a meta-analysis. *Thromb Haemost* 1998; 80:874-7.
- 17 - Guttormsen AB, Ueland PM, Nesthus I, et al.: Determinants and vitamin responsiveness of intermediate hyperhomocysteinemia. *J Clin Invest* 1996; 98:2174-83.
- 18 - Kluijtmans LA, Young IS, Boreham CA, et al.: Genetic and nutritional factors contributing to hyperhomocysteinemia in young adults. *Blood*. 2003; 101:2483-8.
- 19 - Willis L, Mehta MM.: Studies in "pernicious anaemia" of pregnancy, I preliminary report. *Indian Journal of Medical Research* 1930,17:777-15.
- 20 - Willis L.: Treatment of «pernicious anaemia of pregnancy» and "tropical anaemia» with special reference to yeast extract as curative agent. *Br Med J* 1931; 1:1059-63.
- 21 - Angier RB, Boothe JH, Hutchings BL, et al.: Synthesis of a compound identical with the *L. casei* factor isolated from liver. *Science* 1945; 102:227-30.
- 22 - Feldkamp M, Friedrichs M, Carey JC.: Decreasing prevalence of neural tube defects in Utah, 1985-2000. *Teratology*. 2002; 66 S.1: S23-8.
- 23 - Persad VL, Van den Ho/MC, Dubé IM, et al.: Incidence of open neural tube defects in Nova Scotia after folic acid fortification. *CMAJ* 2002; 167:241-6
- 24 - Ray JG, Meier C, Vermeulen MJ, Boss S, et al.: Association of neural tube defects and folic acid food fortification in Canada. *Lancet*. 2002; 360: 2047-8.
- 25 - Erickson JD.: Folic acid and prevention of spina bifida and anencephaly. 10 years after the U.S. Public Health Service recommendation. *MMWR Recomm Rep*. 2002; 51: 1-3.
- 26 - Wilson RD, Davies G, Desilets V, et al.: The use of folic acid for the prevention of neural tube defects and other congenital anomalies. Genetics Committee and Executive and Council of the Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada. *J Obstet Gynaecol Can*. 2003; 25: 959-73.
- 27 - MMWR Morb Mortal Wkly Rep. Knowledge and use of folic acid among women of reproductive age--Michigan, 1998. 2001 Mar 16; 50: 185-9.
- 28 - Hankey CI, Eikelboom JW.: Homocysteine and vascular disease. *Lancet* 1999; 354:407-15.
- 29 - Torres OA, Miller VS, Buist NM, Hyland K.: Folinic acid-responsive neonatal seizures. *J Child Neurol*. 1999; 14: 529-32.
- 30 - Taylor MJ, Carney S, Geddes J, Goodwin G.: Folate for depressive disorders. *Cochrane Database Syst Rev* 2003;(2): CD003390.
- 31 - Malouf R, Grimley Evans J, Areosa Sastre A.: Folic acid with or without vitamin B12 for cognition and dementia. *Cochrane Database Syst Rev* 2003;4: CD0045 14.
- 32 - Green R, Miller JW.: Folate deficiency beyond megaloblastic anemia: hyperhomocysteinemia and other manifestations of dysfunctional folate status. *Seminars in Hematology* 1999; 36:47-51.
- 33 - Giovannucci E.: Epidemiologic studies of folate and colorectal neoplasia. A review. *J Nutr* 2002; 132: 2350-5.
- 34 - Coppola A, Di Mimmo G.: L'uso farmacologico dei folati: prospettive attuali. *Riv. It. Ost. Gin*. 2004; 1: 21-25.
- 35 - Davì G, Di Minno G, Coppola A, et al.: Oxidative stress and platelet activation in homozygous homocystinuria. *Circulation* 2001; 104:1124-28.
- 36 - Coppola A, Davì G, De Stefano V, et al.: Homocysteine, coagulation, platelet function and thrombosis. *Semin Thromb Hemost*. 2000; 26:243-54.

- 37 - Welch CN, Loscalzo J.: Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 1998; 338:1042-50.
- 38 - Jin L, Abou-Mohamed G, Caldwell RB, Caldwell RW.: Endothelial cell dysfunction in a model of oxidative stress. *Med Sci Monit.* 2001;7:585-91.
- 39 - Weiss N, Heydrick SJ, Postea O, et al.: Influence of hyperhomocysteinemia on the cellular redox state-impact on homocysteine-induced endothelial dysfunction. *Clin Chem Lab Med.* 2003;41:1455-61.
- 40 - Tsen CM, Hsieh CC, Yen CH, Lau YT.: Homocysteine altered ROS generation and NO accumulation in endothelial cells. *Chin J Physiol.* 2003;46:129-36.
- 41 - Covers R, Rabelink TJ.: Cellular regulation of endothelial nitric oxide synthase. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001; 280:193-6.
- 42 - Verhaar MC, Stoes E, Rabelink TJ.: Folates and Cardiovascular Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002; 22:6-13.
- 43- Ferretti G, Bacchetti T, Marotti E, Curatola G.: Effect of homocysteinylation on human high-density lipoproteins: a correlation with paraoxonase activity. *Metabolism* 2003;52:146-51.
- 44- Ferretti G, Bacchetti T, Moroni C, et al.: Effect of homocysteinylation of low density lipoproteins on lipid peroxidation of human endothelial cells. *J Cell Biochem.* 2004; 92: 51-60.
- 45 - Cianciolo C, Manna C, Isola E, et al.: Effects of 5-MTHF therapy on hyperhomocysteinemia in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15:9-13.
- 46 - Bucciante C, Raselli S, Baragetti I, et al.: 5-methyltetrahydrofolate restores endothelial function in uraemic patients on convective I haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17:857-61.
- 47 - Assanelli D, Bonanome A, Pezzini A, et al.: Folic acid and Vitamin E supplementation effects on homocysteinemia, endothelial function and plasma antioxidant capacity in young myocardial infarction patients. *Pharmacol Res* 2004; 49: 79-84
- 48 - Stoes ESG, van Faassen EE, Yo M, et al.: Folic acid reverts dysfunction of endothelial nitric oxide synthase. *Circ Res* 2000; 86:1129-34.
- 49 - Verhaar MC, Wevwr RMR, Kastelein JJP et a.: 5-methyltetrahydrofolate, the active form of folic acid, restores endothelial function in familial hypercholesterolemia. *Circulation* 1998; 97: 237-41.
- 50 – Doshi SN, McDowell FW, Moat SJ, et al.: Folic acid improves endothelial function in coronary artery disease via mechanisms largely independent of homocysteine lowering. *Cyrculation* 2002;105:22-6.
- 51 - Das UN.: Folic acid says No to vascular diseases. *Nutrition* 2003; 19: 686-90.
- 52 - Hyndman ME, Verma S, Rosenfeld RJ.: Interaction of 5-methyltetrahydrofolate and tetrahydrobiopterin on endothelial function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 282:2167-72.
- 53 - Reazk BM, Haenen CR, van der Vijgh WJ, Bast A.: Tetrahydrofolate and 5-methyltetrahydrofolate are folates with high antioxidant activity. Identification of the antioxidant pharmacophore. *FEBS* 2003; Lett 555:601-5.
- 54 - Coppola A, Mazzola C, Fermo I, et al.: Homocysteine-lowering effects and reduction of oxidative stress by 5-methyltetrahydrofolate (Prefolic) in subjects with 677TT methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) genotype. *J Inherit Metab Dis* 2003; 26 (S1):123-7.
- 55 - Santi R, Demicheli M, Contino L, et al.: Homocysteine plasma levels after suspension of vitamin treatment. *J Thromb Haemost* 2003; 1:1330-4.
- 56 - Saban-Ruiz J, Bajo-Martinez A, Bernal Morell E, et al.: Is it possible to manage hyperhomocysteinemia with an intermittent therapy? Preliminary results. *J Inherit Metab Dis* 2003; 26 (S1):118-22.
- 57 - Lucock M.: Is folic acid the ultimate functional food component for disease prevention? *BMJ* 2004; 328:211-214.
- 58 - Quinlivan EP, McPartlin J, McNulty H, et al. Importance of both folic acid and vitamin B12 in reduction of risk of vascular disease. *Lancet* 2002; 359:227–8.
- 59 - Bailey LB, Duhaney RL, Maneval DR, et al. : Vitamin B12 status is inversely associated with plasma homocysteine in young women with C677T and/or A1298C methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms. *J Nutr* 2002;132:1872–8.

- 60 - Quinlivan EP, Gregory JF.: Effect of food fortification on folic acid intake in the United States. *AJCN* 2003; 77: 221-225.
- 61 - Malouf R, Grimley Evans J, Areosa Sastre A.: Folic acid with or without vitamin B12 for cognition and dementia. *Cochrane Database Syst Rev* 2003;4: CD0045 14.
- 62 - Morris MS.: Homocysteine and Alzheimer's disease. *Lancet Neurol.* 2003; 2:425-8.
- 63 - Sachdev P.: Homocysteine and neuropsychiatric disorders. *Rev Bras Psiquiatr.* 2004; 26:50-6.
- 64 - Bailey LB.: Folate, Methyl-Related Nutrients, Alcohol, and the MTHFR 677CT Polymorphism Affect Cancer Risk: Intake Recommendations. Supplement: International Research Conference on Food, Nutrition and Cancer. *J. Nutr.* 2003; 133: 3748S-53S
- 65 - Eikelboom JW, Lonn E, Genest J Jr, et al. Homocysteine and cardiovascular disease: a critical review of the epidemiologic evidence. *Ann Intern Med* 1999; 131:363-75.
- 66 – Ueland PM, Refsum H, Beresford SAA, et al. The controversy over homocysteine and cardiovascular risk. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 324-8.
- 67 – Van Dijk, RAJM, Rauwerda JA, Steyn M, et al. Long term homocysteine-lowering treatment with folic acid plus pyridoxine is associated with a decreased blood pressure but not with improved brachial artery endothelium-dependent vasodilatation or carotid artery stiffness. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21:2072-8.
- 68 – Feinleib M, Beresford SAA, Bowman BA, et al. Folate fortification for the prevention of birth defects: a case study. *Am J Epidem* 2001; 154 (S60):12-5.