

## Folati ed osteoporosi

A. CAGNACCI, E. PETRELLA, X. AGNESI, M. CANNOLETTA

RIASSUNTO: **Folati ed osteoporosi.**

A. CAGNACCI, E. PETRELLA, X. AGNESI, M. CANNOLETTA

*Esistono varie evidenze che sembrano legare folati ed osteoporosi. I folati sono una serie di composti vitaminici del gruppo della vitamina B che sono necessari quali donatori di metile per la trasformazione dell'omocisteina in metionina. Studi osservazionali hanno evidenziato che individui con deficit genetici nel metabolismo dell'omocisteina hanno un maggior rischio di sviluppare osteoporosi e frattura. Ugualmente studi osservazionali hanno evidenziato che elevati livelli di omocisteina si associano ad un maggior rischio di frattura. La presenza di folati è necessaria per la riduzione dei livelli di omocisteina. Gli studi che hanno considerato oltre che i livelli di omocisteina anche i livelli di folati hanno evidenziato come i bassi livelli di folati rappresentino un fattore di rischio maggiore rispetto ai livelli di omocisteina per bassi valori di massa ossea, per la velocità di perdita di massa ossea e per fratture osteoporotiche. I folati sembrano pertanto agire nella prevenzione dell'osteoporosi attraverso meccanismi che sono solo in parte mediati dalla loro capacità di ridurre i livelli di omocisteina. La supplementazione con folati in individui con precedente ictus ha ridotto il numero successivo di fratture. Ulteriori studi sono necessari per meglio definire quale sia l'effettivo ruolo dei folati nella fisiologia dell'osso e come la supplementazione con folati si colloca tra le strategie preventive della perdita di massa ossea.*

KEY WORDS: Folati - Menopausa - Osso - Osteoporosi.

### I folati

#### Assorbimento

I folati sono un misto di composti che si trovano in natura in vari vegetali quali le verdure a foglia verde, succhi di arancia, legumi e cereali soprattutto quelli fortificati. I folati sono poco stabili ed il quantitativo contenuto nei vegetali è fortemente diminuito dalla cottura. Le molecole di folati hanno tutte un gruppo pteridico in cui un atomo di carbonio può essere diversamente sostituito. Inoltre i folati possono avere uno stato ossidativo diverso e soprattutto un diverso numero di residui glutammici, che li rendono dei poliglutammati. Per essere assorbiti a livello intestinale, i

poliglutammati sono trasformati in monoglutammati da parte di una idrossilasi situata sulla superficie delle cellule di rivestimento intestinale. L'assorbimento che avviene dal digiuno al colon è favorito da sostanze antiossidanti e peggiorato dall'alcol. Sulla base di studi sperimentali si è evidenziato che la massima bioavaiability dei folati si ha per quelli presenti nel tuorlo d'uovo, nel fegato di bovino, nel succo di arancia, nel cavolo, nei fagioli e nella lattuga. Il fabbisogno giornaliero di folati varia dai 400 ai 600 mcg al giorno.

I folati entrano attraverso un meccanismo saturabile di trasporto all'interno delle cellule intestinali come monoglutammati. All'interno delle cellule subiscono modificazioni enzimatiche che li trasformano in 5-metiltetraidrofolato, la forma attiva che entra in circolo. Qui il 5-metiltetraidrofolato si lega alle proteine del sangue ed è veicolato ai tessuti viscerali ed al midollo dove si deposita. La somministrazione di 5-metiltetraidrofolato dall'esterno è caratterizzata da un assorbimento completo non saturabile, in quanto non limitata da nessuna tappa enzimatica di conversione. I depositi di folati nell'organismo variano dai 4 ai 10 mg e in

caso di mancata assunzione, si esauriscono in conseguenza dell'escrezione renale ed enterica nell'arco di 3-4 mesi.

Un folato particolare è l'acido folico. L'acido folico è una molecola di sintesi, più stabile rispetto ai folati naturali e quindi non facilmente degradabile e resistente alla cottura. Durante l'assorbimento l'acido folico non necessita della idrossilasi per rimuovere residui glutammici, ma come gli altri folati, necessita degli altri enzimi per la sua trasformazione in 5-metil-tetraidrofolato. Esiste una saturazione di questo sistema che è in grado di assorbire circa 400 mcg al giorno di acido folico. L'eventuale surplus entra immutato nel circolo ematico, si deposita nei vari organi e può eventualmente essere trasformato in forma attiva successivamente.

#### Funzioni

I folati sono molecole donatrici di metile. Questa loro azione è fondamentale per la sintesi delle pirimidine del DNA e per la metilazione del DNA con sua conseguente stabilizzazione. Inoltre la donazione di metile catalizzata dalla vitamina B12 entra nel ciclo di rimetilazione dell'omocisteina in metionina (1, 2).

### Folati in menopausa

I livelli dell'omocisteina si elevano progressivamente con l'età (2-4). Nessuno dei due studi specifici sulla menopausa (3, 4) mette in evidenza un effetto diretto dell'evento menopausa sull'elevazione dei livelli di omocisteina. Piuttosto l'invecchiamento sembra essere la causa principale di questo evento. I livelli di folati sono inversamente correlati ai livelli di omocisteina (1), ma in generale non diminuiscono enormemente se non in tarda età (3). Con l'invecchiamento sembra ridursi l'effetto dei folati. Infatti a parità di apporto alimentare di folati o a parità di somministrazione di acido folico dall'esterno, gli individui anziani mostrano più elevati livelli di omocisteina (2). Con l'invecchiamento quindi si instaura una sorta di ridotta attività enzimatica della riconversione dell'omocisteina in metionina che necessita di un maggior quantitativo di folati per raggiungere la piena efficienza metabolica.

### Omocisteina e osteoporosi

Una associazione tra omocisteina, alterazioni del metabolismo e struttura ossea è nota fin dai primi studi sull'iperomocisteinemia familiare in cui individui affetti da questa patologia mostravano anomalie scheletriche ed un maggior rischio di fratture. In effetti, è stato ipotizzato che l'omocisteina possa interferire su

metabolismo e sulla struttura ossea attraverso meccanismi che vanno da una alterazione della struttura collagena (5), ad una tossicità della molecola che porta ad alterazioni proteiche e malfunzionamento di fattori di crescita (6), maggior rischio di apoptosi (7) ed uno stimolo alla formazione degli osteoclasti (8).

Negli ultimi anni sono stati pubblicati vari studi che hanno avvalorato l'ipotesi che una elevazione dell'omocisteina si associ ad un maggior rischio di osteoporosi. Tre lavori effettuati sulla variante omozigote del gene della metilentetraidrofolato reduttasi (MTHFR), enzima deputato a fornire folati attivi per la rimetilazione della omocisteina in metionina, hanno evidenziato che una ridotta attività dell'enzima si associa ad una bassa densità minerale ossea in due studi (9,10) su tre (9-11), e nel terzo non ad una minore densità ossea, ma ad un maggior rischio di fratture (11). È interessante notare che in nessuno di questi studi sono stati documentati livelli di folati o omocisteina. In un ulteriore lavoro le mutazioni del gene MTHFR e i livelli di omocisteina e folati sono stati correlati con la densità minerale ossea (12). Questo studio ha dimostrato che non è la mutazione del gene MTHFR in sé che causa uno stato osteoporotico, ma è soprattutto la presenza di elevati livelli di omocisteina e bassi livelli di folati. In particolare nella variante omozigote lo stato osteoporotico si evidenzia solamente con bassi livelli di folati, indipendentemente dai livelli di omocisteina (12). Successivi studi su omocisteina e fratture (13-16) markers di metabolismo osseo (17) o di densità minerale ossea (18) non hanno considerato i livelli di folati. In breve gli studi hanno mostrato un maggiore rischio di fratture nel quartile più elevato di omocisteina, attribuendo all'omocisteina il rischio di frattura. È importante notare che in tutti questi studi non è stata evidenziata alcuna correlazione tra livelli di omocisteina e densità minerale ossea.

### Folati ed osteoporosi

La possibilità che l'osteoporosi non sia legata solamente ai livelli di omocisteina, ma ad alterazioni metaboliche che causano contemporaneamente una elevazione dei livelli di omocisteina e un'alterazione del metabolismo osseo è stata sollevata da alcuni Autori (19, 20). In effetti quando anche i livelli circolanti di folati e vitamina B12 oltre che di omocisteina sono stati messi in correlazione con la densità minerale ossea e con il rischio di fratture, è stato evidenziato in tutti gli studi che i livelli circolanti di folati e non di omocisteina o vitamina B12 sono quelli effettivamente correlati alla densità minerale ossea (21-23), alla velocità di perdita minerale ossea (24) ed al rischio di fratture (25). Solo in due studi anche i livelli di omo-

cisteina, oltre a quelli dei folati, sono risultati correlati alla densità minerale ossea (26, 27). La stessa relazione è stata evidenziata con il rischio di frattura nella donna (28). In un altro studio in cui sono stati valutati i livelli di omocisteina, folati e vitamina B12, è stata evidenziata una BMD inferiore in individui con vitamina B12  $\leq 100$  pmol/L o omocisteina  $\geq 20$   $\mu$ mol/L (29). In maniera simile in uno studio in donne anziane, non è stata trovata alcuna influenza di omocisteina, vitamina B12 o folati sulla BMD vertebrale, mentre è stata evidenziata una minore BMD femorale nel quartile più alto di omocisteina (30). In entrambi gli ultimi due studi non è stata eseguita però alcuna correlazione tra i vari parametri e la BMD, nè alcuna analisi multivariata che pesasse il ruolo dei vari fattori nel determinismo della BMD.

I folati, oltre che attraverso una riduzione dei livelli circolanti di omocisteina, possono agire con meccanismi aggiuntivi sull'osso. I folati sono coinvolti nei meccanismi di remetilazione proteica e del DNA e possono quindi favorire processi enzimatici e proliferativi più efficienti. Inoltre i folati sono coinvolti nei meccanismi di produzione dell'ossido nitrico attraverso il

mantenimento dell'attività dell'enzima nitric-oxide sintasi (NOS) (31-34).

La NOS è presente negli osteociti (35) e l'aumento di ossido nitrico potenzia l'attività di sintesi e riduce il catabolismo osseo (36). Studi nella specie umana hanno evidenziato come i donatori di ossido nitrico siano in grado di aumentare la densità minerale ossea (37-39).

Pochi studi sono stati effettuati con lo scopo di valutare l'effetto della somministrazione dei folati sul metabolismo osseo.

La somministrazione di folati a dosaggi inferiori o uguali ai 5 mg non sembra modificare i markers del metabolismo osseo (40), ma in associazione alla vitamina B12 riduce il rischio di fracture in individui con precedente ictus (41), benché non elevi significativamente la densità minerale ossea.

Esistono quindi evidenze per suggerire che i folati abbiano azioni più complesse sul metabolismo osseo che non quelle mediate dalla sola capacità di ridurre i livelli di omocisteina. Gli studi di intervento tuttavia non hanno ancora chiarito quali possano essere le loro molteplici azioni.

## Bibliografia

- SELHUB J, et al. *Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population*. JAMA 1993; 279:2693-8.
- RASMUSSEN LB, et al. *Folate intake, lifestyle factors, and homocysteine concentrations in younger and older women*. Am J Clin Nutr 2000; 72:1156-63.
- CHRISTODOULAKOS G, et al. *Homocysteine and folate levels in postmenopausal women*. Menopausa 2001; 39:161-7.
- BRUSCHI F, et al. *Age, menopausal status and homocysteine levels in women around menopause*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Med 2005; 120:195-7.
- LUBEC B, et al. *Evidence for McKusick's hypothesis of deficient collagen cross-linking in patients with homocystinuria*. Biochem Biophys Acta 1996; 1375:59-62.
- KRUMDIECK GL, PRINCE CW. *Mechanisms of homocysteine toxicity on connective tissues: implications for the morbidity of aging*. J Nur 2000; 130:365s-8s.
- KIM DJ, et al. *Homocysteine enhances apoptosis in human bone marrow stromal cells*. Bone 2006; 39:582-90.
- KOH J, et al. *Homocysteine enhances bone resorption by stimulation of osteoclast formation and activity through increased intracellular ROS generation*. J Bone Min Res 2006; 21:1003-11.
- MIYAO M et al. *Association of methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) polymorphism with bone mineral density in postmenopausal Japanese women*. Calcif Tissue Int 2000; 66:190-4.
- JORGENSEN HL, et al. *Association of a common allelic polymorphism (C677T) in the methylene tetrahydrofolate reductase gene with a reduced risk of osteoporotic fractures. A case control study in danish postmenopausal women*. Calcif Tisse Int 2002; 71:386-92.
- ABRAHAMSEN B, et al. *A common methylenetetrahydrofolate reductase (C677T) polymorphism is associated with low bone mineral density and increased fracture incidence after menopause: Longitudinal data from the Danish osteoporosis prevention study*. J Bone Min res 2003; 18:723
- MCLEAN RR, et al. *Association of a common polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene with bone phenotypes depends on plasma folate status*. J bone Mineral Res 2004; 19:410.
- VAN MEURS JBJ, et al. *Homocysteine levels and the risk of osteoporotic fractures*. N engl J Med 2004; 350:2033-41.
- MCLEAN RR et al. *Homocysteine as a predictive factor for hip fracture in older persons*. N Engl J Med 2004; 350:2042-9.
- SATO Y, et al. *Homocysteine as a predictive factor for hip fracture in stroke patients*. Bone 2005; 36:721-6.
- KAHN K. *High homocysteine levels linked to risk for hip fracture in postmenopausal women*. Endocrine Society Meeting 2006, Abstract OR23-1.
- DHONUKSHE RAM, et al. *Homocysteine and vitamin B12 status relate to bone turnover markers, broadband ultrasound attenuation, and fractures in healthy elderly people*. J Bone Min Res 2005; 20:921-9.
- HERRMANN M, et al. *Relation between homocysteine and biochemical bone turnover markers and bone mineral density in peri- and post-menopausal women*. Clin Chem Lab Med 2005; 43:1118-23.
- RAISZ LG. *Homocysteine and osteoporotic fractures. Culprit or bystander?* N engl J med 2004; 350:2089-90.
- HERRMANN M, et al. *Homocysteine. A newly recognized risk factor for osteoporosis*. Clin Chem Lab Med 2005; 43:1111-7.
- CAGNACCI A, et al. *Relation of homocysteine, folate and vitamin B12 to bone mineral density of postmenopausal women*. Bone 2003; 33:956-9.
- GOLBAHAR J, et al. *Association of plasma folate, plasma total homocysteine, but not methylenetetrahydrofolate reductase C677T*

- polymorphism, with bone mineral density in postmenopausal Iranian women: a cross sectional study. *Bone* 2004; 35:760-5.
23. GOLBAHAR J, et al. Association of red blood cell 5-methyltetrahydrofolate folate with bone mineral density in postmenopausal women. *Osteoporosis Int* 2005; 16:1894-8.
  24. CAGNACCI A, et al. Relation of folates, vitamin B12 and homocysteine to vertebral bone mineral density change in postmenopausal women. A five-year longitudinal evaluation. *Bone* 2008; 42:314-20.
  25. RAVAGLIA G, et al. Folate, but not homocysteine, predicts the risk of fracture in elderly persons. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2005; 60:1458-62.
  26. GJESDAL CG, et al. Plasma total homocysteine level and bone mineral density. *The Hordland Homocysteine Study*. *Arch Intern Med* 2006; 166:88-94.
  27. BAINES M, et al. The association of homocysteine and its determinants MTHFR genotype, folate, vitamin B12 and vitamin B6 with bone mineral density in postmenopausal British women. *Bone* 2007; 40:730-6.
  28. GJESDAL CG, et al. Plasma total homocysteine level and bone mineral density. *The Hordland Homocysteine Study*. *Arch Int Med* 200; 166:88-94.
  29. MORRI MS, et al., Relation between homocysteine and B-vitamin status indicators and bone mineral density in older Americans. *Bone* 2005; 37:234-42.
  30. GJESDAL CG, et al. Plasma homocysteine, folate and vitamin B12 and the risk of hip fracture: *The Hordland Homocysteine Study*. *J Bone Min Res* 2007; 22:747-56.
  31. GORI T, et al. Folic acid prevents nitroglycerin-induced nitric oxide synthase dysfunction and nitrate tolerance. A human in vivo study. *Circulation* 2001; 194:1119-23.
  32. DOSHI SN, et al. Folic acid improves endothelial function in coronary artery disease via mechanisms largely independent of homocysteine lowering. *Circulation* 2002; 105:22-6.
  33. DAS U. Folic acid says NO to vascular diseases. *Nutrition* 2003; 19:686-92.
  34. IACHINI BELLISARII F, et al. Mechanisms of nitrate tolerance: potential roles of folate. *Eur J Clin Invest* 2003; 33:93-40.
  35. CÀBALLERO-ALIAS AM, et al. NOS isoforms in aortic human osteocytes: Multiple pathways of NO regulation? *Calcif Tissue Int* 2004; 75:78-84.
  36. WANG F-S, et al. Nitric oxide donor increases osteoprotegerin production and osteoclastogenesis inhibitory activity in bone marrow stromal cells from ovariectomized rats. *Endocrinology* 2004; 145:2148-56.
  37. WIMALAWANSA SJ. Nitroglycerin therapy is as efficacious as standard estrogen replacement therapy (Premarin) in prevention of oophorectomy-induced bone loss: a human pilot clinical study. *J Bone Miner Res* 2000; 15:224-9.
  38. JAMAL SA, et al. L-Asorbic mononitrate increases bone formation and decreases bone resorption in postmenopausal women: a randomized trial. *J Bone Min Res* 2004; 19:1512-7.
  39. JAMAL SA, et al. The effects of organic nitrates on osteoporosis: a randomized controlled trial (ISRCTN94484747). *Trials* 2006; 7:10.
  40. HEERMAN M, et al. Folate supplementation does not affect biochemical markers of bone turnover. *Clin Lab* 2006; 52:131-6.
  41. SATO Y, et al. Effect of folate and metocobalamin on hip fractures in patients with stroke. A randomized controlled trial. *JAMA* 2005; 293:1082-8.