

# L'ASSUNZIONE DI RIBOFLAVINA È INVERSAMENTE ASSOCIATA ALLA MORTALITÀ PER PATOLOGIE CARDIOVASCOLARI E INTERAGISCE CON L'ASSUNZIONE DEI FOLATI: RISULTATI DEL PROGRAMMA DI RICERCA CONDOTTO DAL NATIONAL CENTER FOR HEALTH STATISTICS PER VALUTARE LA SALUTE E LO STATO NUTRIZIONALE DELLA POPOLAZIONE (NHANES) 2005-2016

Ming Li<sup>(1)</sup> and Zumin Shi<sup>(2)</sup>, *Nutrients* 2022, 14 (24), 5345.

<sup>(1)</sup> Division of Health Sciences, University of South Australia, Adelaide, SA 5000, Australia.

<sup>(2)</sup> Human Nutrition Department, College of Health Sciences, QU Health, Qatar University, Doha 2713, Qatar.

L'associazione tra assunzione di riboflavina e il tasso di mortalità non era mai stata esaminata in precedenza. Sono quindi stati analizzati i dati del NHANES su 10.480 adulti per valutare il loro stato vitale. Durante un follow-up medio di 8,5 anni sono stati registrati 1214 decessi, di cui 373 per malattie cardiovascolari (CVD). Chi assumeva dosi più elevate di riboflavina rispetto a chi assumeva dosi più basse mostrava una riduzione della mortalità per CVD e della mortalità per qualsiasi altra causa. L'associazione inversa tra assunzione di riboflavina e la mortalità CVD era significativa quando c'era anche un'elevata assunzione di folati. Quelli con un alto apporto di folati e basso apporto di riboflavina invece presentavano un maggior rischio di mortalità per malattie cardiovascolari. Questi risultati mostrano come l'assunzione di riboflavina sia inversamente correlata alla mortalità per tutte le cause e CVD, per cui la relazione viene condizionata ed è dipendente dalla quantità di folati assunti.

## ABSTRACT

L'associazione tra l'assunzione di riboflavina e il tasso mortalità non era mai stata precedentemente esaminata in modo approfondito nella popolazione. In questo studio, 10.480 adulti appartenenti al programma di ricerca National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2005-2016 sono stati seguiti fino al 2019 per monitorare il loro stato di salute. La riboflavina e il folato sono stati valutati mediante il metodo "two-day 24 h diet recall". La data e la causa della morte sono state ottenute dal Registro di mortalità degli Stati Uniti. I rischi di mortalità per tutte le cause e mortalità per malattie cardiovascolari (CVD) sono stati studiati utilizzando un'analisi di regressione di Cox. Durante un follow-up medio di 8,5 anni, sono stati registrati 1.214 decessi (inclusi 373 decessi per

CVD e 302 per cancro). Rispetto al livello basso (quartile 1, Q1) di assunzione di riboflavina, gli hazard ratio (HR) (intervallo di confidenza al 95% (IC)) per il livello alto (quartile 4, Q4) erano 0,53 (0,31-0,90) per la mortalità CVD e 0,62 (0,48-0,81) per la mortalità per tutte le cause. L'associazione inversa tra l'assunzione di riboflavina e la mortalità CVD era significativa solo tra quelli con un'elevata assunzione di folato (per interazione 0,045). Quelli con un elevato apporto di folati (Q4) e basso apporto di riboflavina (Q1) avevano il più alto rischio di mortalità CVD (HR 4,38, IC 95% 1,79-10,72), rispetto a un elevato apporto sia di riboflavina che di folato. In conclusione, l'assunzione di riboflavina è risultata inversamente associata alla mortalità per tutte le cause e alla mortalità per malattie cardiovascolari, per cui la relazione viene condizionata ed è dipendente dalla quantità di folati assunti.

## INTRODUZIONE

Il rapporto più recente dell'Organizzazione mondiale della sanità (OMS) ha dimostrato che i tre quarti di tutti i decessi ogni anno sono attribuibili a malattie non trasmissibili, con le malattie cardiovascolari (CVD) che rappresentano la causa più comune, seguite dai tumori, soprattutto nelle regioni più sviluppate<sup>[1]</sup>. Continuare a monitorare l'andamento della mortalità e le sue cause è di aiuto per valutare ulteriormente le strategie di assistenza e gli interventi sanitari necessari per garantire al meglio lo stato di salute della popolazione anche a scopo preventivo. A questo proposito, sono state condotte indagini epidemiologiche per valutare l'associazione tra la vitamina B e la mortalità per cancro e/o mortalità per tutte le cause in diverse popolazioni. All'inizio i risultati mostravano delle incongruenze. Ad esempio, un'analisi composta da 18 studi controllati randomizzati condotti su pazienti con tumori renali/CVD/tumori prima del 2015 non ha mostrato alcuna associazione tra l'integrazione di vitamina B (acido folico, B6 e B12) e il cancro/mortalità per tutte le cause<sup>[2]</sup>. D'altra parte, studi prospettici di follow-up più recenti tra la popolazione generale degli Stati Uniti hanno mostrato invece che livelli più bassi di vitamina B12 sierica o vitamina B12/B6/folati nella dieta erano associati a un rischio più elevato di mortalità per CVD/mortalità per tutte le cause<sup>[3]</sup>. Inoltre, una meta-analisi che include sia RCT che studi di follow-up fino al 2018 ha indicato l'effetto benefico del folato sulle condizioni di salute in relazione alla mortalità, CVD e al metabolismo<sup>[4]</sup>. In quanto membro della famiglia del complesso B, la riboflavina è ampiamente presente negli alimenti sia vegetali che animali, tra cui latte, carne, uova, noci, farina e verdure verdi. È un componente chiave dei coenzimi coinvolti nella crescita cellulare, nella produzione di energia e nel metabolismo di grassi, steroidi e farmaci<sup>[5]</sup>. Questi effetti biologici della riboflavina sono stati ampiamente dimostrati in virtù delle sue loro proprietà antiossidanti, antiaging, antinfiammatorie, antinocicettive e antitumorali<sup>[6]</sup>. La carenza di riboflavina è associata direttamente o indirettamente a problematiche della salute come emicrania<sup>[7]</sup>, neuropatia infantile<sup>[8]</sup>, anemia<sup>[9]</sup>, ipertensione<sup>[10,11]</sup> e cancro<sup>[12]</sup>, solo per citarne alcune, come viene documentato in una recente revisione sistematica<sup>[13]</sup>. I meccanismi alla base del suo effetto su ciascuna di queste condizioni di salute sono complessi. Per quanto riguarda l'anemia, la riboflavina può non solo migliorare l'assorbimento del ferro, ma anche

mobilitare l'accumulo di ferro che coinvolge la ferritina<sup>[14]</sup>. Studi di rilevanza per la salute pubblica hanno messo in relazione l'importanza della riboflavina come fattore di protezione contro CVD e tumori<sup>[15,16]</sup>. Tuttavia, la sua relazione con la mortalità non era stata studiata, a differenza di altri membri del complesso B. Ad esempio, i dati del Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANESIII) e del NHANES 1999-2014 hanno mostrato che una maggiore assunzione di folati nella dieta ha ridotto la mortalità per tutte le cause e la mortalità per malattie cardiovascolari del 23% (hazard ratio (HR): 0,77, 95% CI 0,71-0,85) e del 41% (HR: 0,59, 95% CI 0,48-0,72) negli uomini e rispettivamente del 14% e del 47% nelle donne<sup>[17]</sup>. Tra i partecipanti ad alto rischio di CVD, un supplemento di folati ha ridotto la mortalità per CVD del 44% e la mortalità per tutte le cause del 28%<sup>[18]</sup>. Dal 1998, l'assunzione di cereali contenenti i folati è stata fortemente spinta negli Stati Uniti<sup>[19]</sup>. È stato studiato l'impatto/l'associazione dell'eccesso di folati sulla mortalità ed è stato riportato che alti livelli di folati nei globuli rossi sono indipendentemente associati a un aumento del rischio di mortalità per tutte le cause e CVD tra la popolazione statunitense con diabete<sup>[20]</sup>, e la relazione non è lineare<sup>[21]</sup>; una relazione non lineare simile è stata riportata anche nelle popolazioni statunitensi con malattie renali croniche<sup>[22]</sup>. Questi studi indicano che le preoccupazioni per la salute pubblica si sono spostate dagli effetti di un'assunzione inadeguata di folati a un'eccessiva assunzione di folati<sup>[23]</sup>. Inoltre, gli studi hanno indicato che un'eccessiva quantità di folato interagisce con altre vitamine del gruppo B, comportando un effetto negativo sulla funzione cognitiva<sup>[24]</sup> e sul rischio di cancro del colon-retto<sup>[25]</sup>. Si è deciso quindi di studiare l'associazione tra l'assunzione alimentare di riboflavina e la mortalità nella popolazione adulta degli Stati Uniti con un focus su l'interazione tra riboflavina e assunzione di folati in relazione alla mortalità.

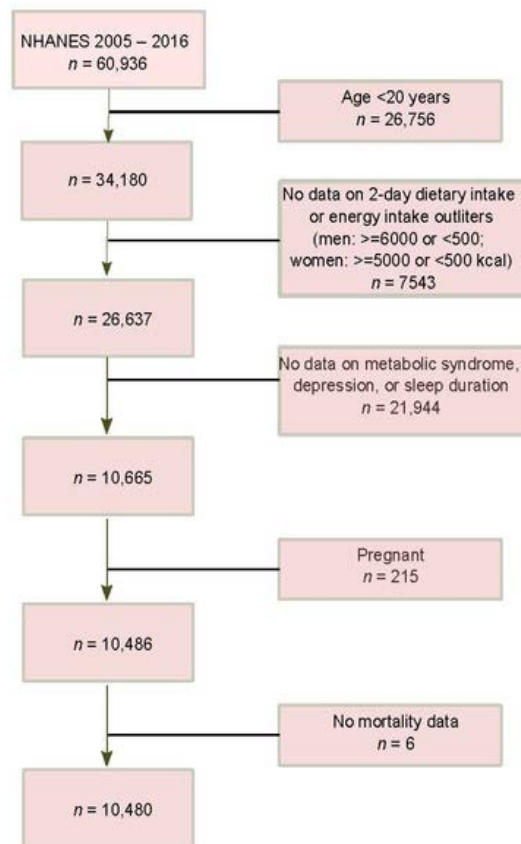
## **METODO**

### **2.1 Studio della popolazione**

Questo è uno studio di follow-up degli adulti che hanno partecipato alla ricerca 2005-2016 di NHANES negli Stati Uniti fino alla fine del 2019 sul loro stato vitale, utilizzando tutti i dati pubblicamente disponibili.

NHANES ha seguito e analizzato una serie di sondaggi a ciclo biennale condotti dal Centro nazionale per le statistiche sanitarie (NCHS) dei Centers for Disease Control and Prevention (CDC) dal 1999. I campioni del sondaggio sono stati selezionati utilizzando un disegno di campionamento multistadio e stratificato e costituivano campioni rappresentativi della popolazione civile statunitense non istituzionalizzata<sup>[26]</sup>. I partecipanti sono stati intervistati a casa e invitati per un esame clinico. I dati raccolti in ciascun ciclo includevano quanto segue: dati demografici, registri dietetici, esami di laboratorio e questionari. I dettagli sulle procedure del laboratorio/tecnologia medica NHANES e le procedure antropometriche sono descritti altrove<sup>[27]</sup>. Il protocollo del sondaggio è stato approvato annualmente dal NCHS Research Ethics Review Board e tutti i partecipanti hanno fornito il consenso informato scritto<sup>[26]</sup>.

I dati utilizzati in questo studio sono pubblicamente accessibili sul sito Web NHANES. Un totale di 10.480 adulti risultavano idonei per questo studio in base ai seguenti criteri: età pari o superiore a 20 anni; assunzione di calorie giornaliere (500-6000 kcal per gli uomini e 500-5000 kcal per le donne) che venivano verificate ogni due giorni; avere informazioni sulla salute e sapere se i partecipanti presentavano problematiche come ad esempio la sindrome metabolica, la depressione, conoscere la qualità del sonno; non essere incinta al momento del sondaggio; avere dati generali sullo stato vitale (Figura 1).



### Risultato dello studio

Lo stato di mortalità dei partecipanti di età  $\geq 20$  anni per i partecipanti NHANES nel periodo 2005-2016 è stato determinato grazie al National Death Index (NDI) <sup>[28]</sup>. L'NDI gestito da NCHS è la fonte di informazioni sulla mortalità più completa e dettagliata della nazione negli Stati Uniti. I dati includono lo stato vitale (vivo o morto), la data del decesso e la causa del decesso. I partecipanti che non erano deceduti al 31 dicembre 2019, sono stati considerati vivi. Utilizzando le 113 categorie di cause di morte incluse nei files di uso pubblico, la morte è stata raggruppata nelle seguenti categorie principali: principali malattie cardiovascolari (International Classification of Diseases, 10th Revision (ICD-10) I00-I78), neoplasie maligne (ICD-10 C00-C97) e altre cause.

### 2.3. Fattori di esposizione

L'assunzione nella dieta di riboflavina e folato è stata ottenuta con una metodologia chiamata "2-day diet recall". Il primo giorno (giorno 1) i dati sono stati raccolti presso il Mobile Examination Center (MEC) e il secondo giorno (giorno 2) invece telefonicamente da 3 a 10 giorni dopo. L'assunzione di nutrienti dal cibo è stata valutata utilizzando il Food and Nutrient Database for Dietary Studies (FNDDS) del Dipartimento dell'Agricoltura degli Stati Uniti (USDA), che ha fornito il contenuto di nutrienti in ciascun alimento<sup>[29]</sup>. L'assunzione di cibo è stata collegata ai dati di altri componenti NHANES per questo studio. Informazioni dettagliate sulla parte dell'intervista dietetica sono state pubblicate in precedenza<sup>[30]</sup>.

### 2.4. Altre variabili

Lo studio ha incluso le seguenti variabili: età; genere; razza o etnia; formazione scolastica; reddito familiare; consumo di alcool; apporto energetico; presenza di malattie cardiovascolari (infarto del miocardio, ictus o insufficienza cardiaca congestizia), ipertensione, sindrome metabolica, depressione e qualità del sonno. Queste variabili sono state raccolte nel sondaggio 2005-2016. Lo stato di fumatore è stato esaminato durante l'intervista, dove veniva definito non fumatore ogni partecipante che non aveva mai fumato (non aveva mai fumato  $\geq 100$  sigarette durante la sua vita) o che aveva smesso di fumare (aveva fumato  $\geq 100$  sigarette e non fumava al momento dell'indagine), mentre per fumatore si intendeva chi fumava  $\geq 100$  sigarette e fumava al momento dell'indagine. Il consumo di alcol veniva determinato dal fatto se si assumeva alcool oppure no nel singolo richiamo dietetico di 24 ore e classificato come "Sì" o "No". L'attività fisica nel tempo libero veniva classificata durante l'intervista come  $< 600$ ,  $600-1200$  e  $\geq 1200$  equivalenti metabolici (METS) minuti/settimana in base alla frequenza autodichiarata e alla durata della partecipazione ad attività fisica moderata e vigorosa negli ultimi 30 giorni. Le misure di peso, altezza e pressione sanguigna venivano ottenute mediante il protocollo di misurazione standardizzato<sup>[27]</sup>.

### 2.5 Analisi statistica

Le caratteristiche della popolazione, comprese le percentuali e le medie, sono state confrontate rispettivamente per quartili di riboflavina con test del chi-quadro e test ANOVA.

L'associazione tra la riboflavina e la mortalità per tutte le cause o mortalità CVD è stata studiata utilizzando un'analisi di regressione di Cox, in correlazione alle variabili. Il tempo di follow-up in termini di mesi è durato dalla data di ingresso nello studio fino alla data del decesso o alla fine dello studio il 31 dicembre 2019. I residui di Schoenfeld (differenza tra il valore osservato del predittore associato al parametro del modello e il valore previsto del predittore per i casi nel rischio impostato al momento dell'evento osservato) sono stati utilizzati per testare le ipotesi di proporzionalità. Per ogni analisi di associazione, sono stati costruiti i seguenti modelli: Modello 1 dove si teneva conto dell'età, sesso e apporto energetico rispetto ad un modello dove non si teneva conto di

nessuna variabile; Modello 2 dove si teneva anche conto di istruzione, fumo, consumo di alcol, attività fisica e assunzione di grassi in base al Modello 1; Il Modello 3 dove si teneva conto anche di presenza di sindrome metabolica, depressione e il sonno breve in base al Modello 2. È stata condotta un'analisi di sensibilità aggiungendo una integrazione di riboflavina nel Modello 3. L'interazione moltiplicativa della riboflavina e di ciascuno degli altri fattori con la mortalità per tutte le cause e la mortalità CVD è stata testata con l'analisi di regressione di Cox. È stata condotta un'analisi stratificata per età, sesso, etnia, fumo, alcol e assunzione di folati. L'effetto congiunto di riboflavina e folato sulla mortalità è stato valutato mediante un'analisi di regressione di Cox utilizzando un'elevata assunzione sia di folato che di riboflavina (quarto quartile) come gruppo di riferimento. Tutte le analisi sono state eseguite utilizzando STATA 17.0 (Stata Corporation, College Station, TX, USA). La significatività statistica è stata considerata quando  $p < 0,05$  (test a due code).

## RISULTATI

### 3.1. Caratteristiche della popolazione

In questo studio sono stati inclusi un totale di 10.480 adulti (età media 50,3 anni) che hanno partecipato ai sondaggi nel periodo 2005-2016 (Figura 1). Tra questi, il 49% erano maschi, il 47% erano bianchi non ispanici, quasi il 30% proveniva da famiglie a basso reddito, il 20% erano fumatori, il 68% beveva alcolici, il 40% svolgeva poca attività fisica e il 35% dormiva poco. Inoltre, il 37% soffriva di ipertensione, il 49% di sindrome metabolica e l'8% di depressione.

L'assunzione giornaliera media di zuccheri, grassi e proteine è stata rispettivamente di 2024,1 (SD 781,9) Kcal, 76,6 (SD 36,3) grammi e 80,2 (SD 34,0) grammi. L'assunzione giornaliera media di riboflavina è stata di 2,1 (DS 1,0) mg, da 1,0 (SD 0,2) mg nel quartile più basso (Q1) a 3,4 (SD 1,0) mg in quello più alto (Q4). L'assunzione giornaliera media di folato è stata di 397,7 (SD 207,3) microgrammi o 524,8 (SD 298,3) microgrammi di folato alimentare equivalente (DFE). Inoltre, il 26% e il 27% dei partecipanti hanno assunto rispettivamente integratori a base di sola riboflavina e di solo acido folico.

Rispetto alla popolazione che assumeva minore quantità di riboflavina, coloro che avevano l'assunzione più alta erano significativamente più giovani, maschi o bianchi non ispanici, o avevano un reddito familiare più elevato o un livello di istruzione superiore. Erano con più probabilità non fumatori, non bevitori o avevano un livello di attività fisica più elevato e non avevano difficoltà a dormire (tutti i valori  $p < 0,001$ ). La prevalenza di ipertensione, malattie cardiovascolari, sindrome metabolica e depressione era inferiore, ma l'assunzione giornaliera media di macronutrienti era più elevata tra coloro che avevano un elevato consumo di riboflavina (tutti i valori di  $p < 0,01$ ).

### 3.2 Assunzione di riboflavina e mortalità

Al 31 dicembre 2019, con una media di 8,5 anni di follow-up (mediana 8,4, scarto interquartile (IQR) 5,7-11,3), sono stati registrati un totale di 1214 decessi. Di questi, 373 (30,7%) sono morti per CVD e 302 (24,9%) per cancro.

I tassi di mortalità complessiva ponderata (caso/1000 anni persona) per i quartili di riboflavina erano 12, 61, 9, 34, 10, 20 e 7,00 ( $p < 0,001$ ). Allo stesso modo, il tasso di incidenza di mortalità per CVD dovuto a una minore assunzione di riboflavina era significativamente superiore al tasso derivante da un'assunzione più elevata con i tassi corrispondenti (caso/1000 anni-persona) di 3, 30, 3, 41, 3, 14 e 1,84 ( $p < 0,001$ ).

Il rapporto di rischio nell'analisi di sopravvivenza (HR, IC 95%) della mortalità per tutte le cause nei quartili di assunzione di riboflavina era 1,0 (riferimento), 0,74 (0,59-0,93), 0,80 (0,65-0,99) e 0,61 (0,50-0,75) ( $p$  per trend  $< 0,001$ ). L'associazione è rimasta significativa dopo che sono subentrate le variabili età, sesso ed energia nel Modello 1 con l'HR corrispondente (IC 95%) pari a 1,00, 0,66 (0,53-0,81), 0,68 (0,55-0,84) e 0,59 (0,46-0,76) ( $p < 0,001$ ). L'HR non è cambiato sostanzialmente dopo un ulteriore aggiustamento per i fattori socioeconomici, comportamentali e dietetici nel Modello 2 e i rischi per la salute (sindrome metabolica, depressione e sonno breve) nel Modello 3. In particolare, l'HR completamente aggiustato (IC 95%) per tutti-la mortalità per causa associata all'assunzione di riboflavina è stata di 1,0 per il quartile più basso, 0,69 (0,55-0,87) per il secondo trimestre, 0,74 (0,58-0,93) per il terzo trimestre e 0,62 (0,48-0,81) per il quartile di assunzione più alto (Modello 3, ( $p = 0,002$ )). La forza dell'associazione era quasi la stessa quando è stato introdotto il supplemento di riboflavina ( $p = 0,006$ ).

Il rischio relativo di mortalità CVD è stato ridotto del 45% per coloro che avevano la più alta assunzione di riboflavina rispetto a quelli con la più bassa assunzione (HR: 0,55, 95 CI 0,39-0,77) ( $p = 0,001$ ). Il rischio ridotto è rimasto coerente se aggiustato per fattori socioeconomici, comportamentali e dietetici (Modello 1, Modello 2) e condizioni di salute (Modello 3), con l'HR corrispondente (IC 95%) nel Modello 3 pari a 0,53 (0,31-0,90) ( $p = 0,026$ ). L'associazione non era significativa quando è stato incluso il supplemento di riboflavina ( $p = 0,165$ ).

I rischi relativi non aggiustati di mortalità per cancro (HR, IC 95%) nei quartili di assunzione di riboflavina erano 1,00 per il primo trimestre, 0,73 (0,43-1,26) per il secondo trimestre, 0,80 (0,50-1,29) per il terzo trimestre e 0,81 (0,53-1,24) per Q4 ( $p = 0,450$ ) e il corrispondente HR aggiustato (IC 9%) era 1,00, 0,63 (0,37-1,06), 0,61 (0,37-1,01) e 0,61 (0,36-1,03), rispettivamente (Modello 3,  $p = 0,103$ ). L'associazione è rimasta insignificante quando è stato incluso il supplemento di riboflavina ( $p = 0,483$ ).

Il genere femminile, l'attività fisica e il consumo di alcol erano inversamente associati, ma l'età e il fumo erano positivamente associati alla mortalità per tutte le cause.

L'associazione tra riboflavina e mortalità CVD non variava all'interno dei sottogruppi per età, sesso, etnia, fumo o alcol. Tuttavia, è stata trovata una significativa interazione moltiplicativa tra l'assunzione di riboflavina e l'assunzione di folati in relazione alla mortalità CVD ( $p$  per interazione 0,045). Tra quelli con un'elevata assunzione di folato (Q3 e 4), l'HR (IC 95%) per CVD è stato ulteriormente ridotto a 0,48 (0,21-1,09) per Q2, 0,26 (0,11-0,66) per Q3 e 0,20 (0,08-0,50) per Q4, mentre nessuna associazione inversa è stata trovata tra quelli con un basso apporto di folato (Q1 e Q2). Una maggiore assunzione di riboflavina è stata associata in modo significativo alla riduzione del rischio di mortalità per tutte le cause

solo nella popolazione bianca non ispanica (HR (IC 95%), essendo 0,61 (0,46-0,81) per il secondo trimestre, 0,64 (0,49-0,83) per il terzo trimestre, e 0,53 (0,39-0,70) per il quarto trimestre rispetto all'assunzione del primo trimestre, ma non in altri strati etnici. Inoltre, l'associazione variava in base allo stato di consumo di alcol con un effetto significativo tra i bevitori e il corrispondente HR (IC 95%) per la riboflavina quartili di assunzione era 1 per Q1, 0,51 (0,36-0,72) per Q2, 0,49 (0,35-0,69) per Q3 e 0,39 (0,26-0,58) per Q4 ( $p < 0,001$ ). La mortalità per causa sembrava inferiore nel sottogruppo ad alto consumo di folati rispetto ai sottogruppi a basso consumo, ma la differenza non raggiungeva il livello di significatività ( $p = 0,111$ ). L'effetto congiunto di riboflavina e folato in relazione alla mortalità per CVD è mostrato nella Figura 2. Rispetto a quelli con un'elevata assunzione sia di folato che di riboflavina (Q4), quelli con un'elevata assunzione di folato (Q4) ma bassa riboflavina (Q1) aveva il più alto rischio di mortalità per CVD, specialmente nelle donne (HR 8,73, 95% CI 2,07-36,85). Un effetto congiunto simile è stato riscontrato per la mortalità per tutte le cause.

## DISCUSSIONE

In queste categorie di popolazione che hanno partecipato ai sondaggi NHANES, è stato dimostrato che una assunzione più elevata di riboflavina era inversamente associato alla mortalità per tutte le cause e alla mortalità per malattie cardiovascolari. C'era una significativa interazione tra riboflavina e assunzione di folati in relazione alla mortalità CVD. Il rischio più elevato di mortalità per CVD è stato riscontrato tra coloro che avevano un'elevata assunzione di folato ma una bassa assunzione di riboflavina.

I risultati di questo studio sull'associazione inversa tra riboflavina e mortalità CVD sono coerenti con le attuali conoscenze. La riboflavina svolge un ruolo importante nel metabolismo dei folati poiché il suo metabolita, flavina adenina dinucleotide, funge da cofattore per la metilene tetraidrofolato reduttasi (MTHFR)<sup>[31]</sup>. Gli individui con il genotipo omozigote MTHFR 677 TT hanno una ridotta attività di MTHFR, che porta a una maggiore concentrazione di omocisteina<sup>[32]</sup>. Inoltre, l'effetto è più marcato negli individui con un elevato stato di folati. La prevalenza del genotipo MTHFR 677 TT variava dal 4 al 26% nelle popolazioni di origine europea<sup>[33]</sup>. Le persone con il genotipo MTHFR 677TT avevano un rischio più elevato di CVD rispetto a quelle senza questo polimorfismo<sup>[31]</sup>. In uno studio clinico condotto su 680 adulti sani con un genotipo MTHFR 677C>T noto, la riboflavina ha abbassato i livelli di omocisteina nel sangue in individui con il genotipo MTHFR 677TT, ma diversamente dal folato e dalla vitamina B12, la riboflavina non ha abbassato i livelli di omocisteina in individui con altri gruppi di genotipi MTHFR<sup>[34]</sup>.

Un studio irlandese con riboflavina (16 mg/die) ha riportato che la riboflavina ha abbassato la pressione sanguigna (da 144/87 a 131/80 mmHg) nei pazienti CVD con genotipo TT, ma non negli altri gruppi di genotipo MTHFR.<sup>[35]</sup> I risultati sono stati confermati in uno studio di follow-up dei partecipanti originali<sup>[36]</sup>. In un ampio studio osservazionale su 6076 adulti irlandesi, lo stato di biomarcatore basso o carente della riboflavina era di circa il 30% e acui il rischio genetico di ipertensione associato al genotipo MTHFR 677TT<sup>[37]</sup>.



In uno studio di Coorte (Cohort Study) di cinque anni su adulti cinesi, è stato riscontrato che una maggiore assunzione di riboflavina era inversamente associata a un cambiamento della pressione arteriosa sistolica<sup>[16]</sup>.

In questo studio, l'associazione inversa tra l'assunzione di riboflavina e la mortalità era significativa solo tra coloro che bevevano alcolici. Potrebbe essere spiegato dal fatto che l'alcolismo aumenta il rischio di carenza di riboflavina<sup>[38]</sup>. Inoltre, è stato dimostrato che l'alcol interferisce con il metabolismo dei folati e ha effetti opposti sui rischi di CVD. Nello studio sulla salute degli infermieri, i forti bevitori con un'assunzione totale di folati inferiore (<180 microgrammi/giorno) avevano il rischio più elevato di malattie croniche maggiori rispetto agli astemi con un'assunzione di folati di 400-599 microgrammi/giorno<sup>[39]</sup>. È in corso un dibattito sul fatto che i benefici dell'aumento di assunzione di acido folico superino il rischio di mascherare la carenza di vitamina B12<sup>[40]</sup>. Dopo l'aumento di assunzione di folati negli Stati Uniti, la prevalenza di basse concentrazioni di folato nel siero (<10 nmol/L) o nei globuli rossi (<340 nmol/L) era ≤1%<sup>[41]</sup>. C'è preoccupazione per l'effetto dannoso degli alti quantitativi di folati o acido folico sulla cognizione nelle persone anziane con bassi livelli di vitamina B12<sup>[24]</sup>. Questo studio ha sollevato ulteriori domande sugli effetti sulla salute a lungo termine dell'aumento di assunzione di folati. In questa popolazione esaminata, l'assunzione media di riboflavina era di 2,1 mg/giorno e la prevalenza dell'insufficiente apporto dietetico di riboflavina e folato era rispettivamente del 13,5% e del 61%, utilizzando le dosi giornaliere raccomandate<sup>[42]</sup>. L'aumento del rischio di CVD tra coloro che hanno un'elevata assunzione di folati ma una normale assunzione di riboflavina (Q1) è probabilmente correlato all'elevato livello di folati. Un effetto congiunto dell'assunzione di folati e riboflavina sugli adenomi del colon-retto è stato riportato in uno studio caso-controllo nei Paesi Bassi, che ha affermato che esisteva un'associazione leggermente positiva tra l'assunzione di folati nella dieta e il rischio di adenoma del colon-retto, specialmente tra quelli con basse assunzioni di vitamina B2<sup>[25]</sup>. Questa è la prima valutazione dell'associazione tra riboflavina e mortalità, aggiungendo nuove prove nello studio del complesso B in relazione alla mortalità. La popolazione che ha partecipato allo studio è stata selezionata con un metodo di campionamento probabilistico complesso, stratificato e multistadio. I risultati e i fattori di studio sono stati raccolti sulla base di un protocollo standardizzato e di una solida metodologia. Una serie di fattori socioeconomici, comportamentali e sanitari sono stati raccolti. La dimensione del campione era abbastanza grande per stime relativamente precise dell'associazione. Devono essere comunque prese in considerazione le limitazioni di questo studio. In primo luogo, non è stato possibile valutare l'assunzione abituale a lungo termine di riboflavina, nonostante il fatto che i dati sull'assunzione di cibo siano stati raccolti ogni due giorni<sup>[43]</sup>. In secondo luogo, il risultato dello studio potrebbe essere una classificazione errata derivante dal collegamento dei dati con il metodo della corrispondenza probabilistica; tuttavia, i dati di origine provenivano dal registro nazionale affidabile<sup>[44]</sup>. In terzo luogo, i fattori che coinvolgono la digestione del cibo e l'assorbimento della riboflavina come le funzioni gastrointestinali ed epatiche

non sono stati inclusi in questo studio e non è stato possibile valutare altri potenziali effetti. Inoltre, non vi erano misure oggettive dello stato della riboflavina nel campione. Il folato totale sierico è stato misurato solo nel 2007-2008 e nel 2011-2016. Utilizzando i dati disponibili, abbiamo scoperto che l'assunzione di folato era significativamente associata al folato sierico con un coefficiente di correlazione di 0,124 ( $p < 0,001$ ). Infine, l'esiguo numero di decessi per cancro ha limitato ulteriori indagini sull'associazione tra riboflavina e mortalità specifica per cancro, poiché l'associazione variava in base al tipo di cancro [6,13,15].

In conclusione, seguendo la popolazione adulta rappresentativa nazionale nelle indagini NHANES durante il periodo 2005-2016 fino alla fine del 2019, è stato scoperto che una maggiore assunzione di riboflavina era associata a un ridotto rischio di mortalità per tutte le cause e, in particolare, mortalità per malattie cardiovascolari. Questa associazione protettiva per la morte per CVD veniva rafforzata da una maggiore assunzione di folati, mentre un'elevata assunzione di folati potrebbe mascherare l'effetto di una minore assunzione di riboflavina. È giustificata un'ulteriore esplorazione di una dieta equilibrata con una combinazione ottimale di assunzione di riboflavina e folati per prevenire un'eccessiva mortalità per CVD.

## Bibliografia

1. WHO. Noncommunicable Diseases. Available online: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases> (accessed on 2 August 2022).
2. Zhang, S.L.; Chen, T.S.; Ma, C.Y.; Meng, Y.B.; Zhang, Y.F.; Chen, Y.W.; Zhou, Y.H. Effect of vitamin B supplementation on cancer incidence, death due to cancer, and total mortality: A PRISMA-compliant cumulative meta-analysis of randomized controlled trials. *Medicine* 2016, 95, e3485.
3. Wolffenbuttel, B.H.R.; Heiner-Fokkema, M.R.; Green, R.; Gans, R.O.B. Relationship between serum B12 concentrations and mortality: Experience in NHANES. *BMC Med.* 2020, 18, 307.
4. Bo, Y.; Zhu, Y.; Tao, Y.; Li, X.; Zhai, D.; Bu, Y.; Wan, Z.; Wang, L.; Wang, Y.; Yu, Z. Association Between Folate and Health Outcomes: An Umbrella Review of Meta-Analyses. *Front. Public Health* 2020, 8, 550753.
5. NIH. Riboflavin. Available online: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Riboflavin-HealthProfessional/> (accessed on 12 August 2022).
6. Suwannasom, N.; Kao, I.; Pruss, A.; Georgieva, R.; Baumler, H. Riboflavin: The Health Benefits of a Forgotten Natural Vitamin. *Int. J. Mol. Sci.* 2020, 21, 950.
7. Hoffman, M.R.; Alheimer, A. Is riboflavin effective for migraine prophylaxis? *Evid. Based Pract.* 2020, 23, 36.
8. Plantone, D.; Pardini, M.; Rinaldi, G. Riboflavin in Neurological Diseases: A Narrative Review. *Clin. Drug Investig.* 2021, 41, 513–527.
9. Aljaadi, A.M.; Devlin, A.M.; Green, T.J. Riboflavin intake and status and relationship to anemia. *Nutr. Rev.* 2022, 81, 114–132.
10. Liu, M.; Zhou, C.; Zhang, Z.; Li, Q.; He, P.; Zhang, Y.; Li, H.; Liu, C.; Qin, X. Inverse Association Between Riboflavin Intake and New-Onset Hypertension. *Hypertension* 2020, 76, 1709–1716.
11. Psara, E.; Pentieva, K.; Ward, M.; McNulty, H. Critical review of nutrition, blood pressure and risk of hypertension through the lifecycle: Do B vitamins play a role? *Biochimie* 2020, 173, 76–90.
12. Zeng, J.; Gu, Y.; Fu, H.; Liu, C.; Zou, Y.; Chang, H. Association Between One-carbon Metabolism-related Vitamins and Risk of Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis of Prospective Studies. *Clin. Breast Cancer* 2020, 20, e469–e480.
13. Thakur, K.; Tomar, S.K.; Singh, A.K.; Mandal, S.; Arora, S. Riboflavin and health: A review of recent human research. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2017, 57, 3650–3660.
14. Fishman, S.M.; Christian, P.; West, K.P. The role of vitamins in the prevention and control of anaemia. *Public Health Nutr.* 2000, 3, 125–150.
15. Powers, H.J. Riboflavin (vitamin B-2) and health. *Am. J. Clin. Nutr.* 2003, 77, 1352–1360.
16. Shi, Z.; Yuan, B.; Taylor, A.W.; Zhen, S.; Zuo, H.; Dai, Y.; Wittert, G.A. Riboflavin intake and 5-year blood pressure change in Chinese adults: Interaction with hypertensive medication. *Food Nutr. Bull.* 2014, 35, 33–42.
17. Bo, Y.; Xu, H.; Zhang, H.; Zhang, J.; Wan, Z.; Zhao, X.; Yu, Z. Intakes of Folate, Vitamin B6, and Vitamin B12 in Relation to All-Cause and Cause-Specific Mortality: A National Population-Based Cohort. *Nutrients* 2022, 14, 2253.
18. Xu, X.; Wei, W.; Jiang, W.; Song, Q.; Chen, Y.; Li, Y.; Zhao, Y.; Sun, H.; Yang, X. Association of folate intake with cardiovascular-disease mortality and all-cause mortality among people at high risk of cardiovascular-disease. *Clin. Nutr.* 2022, 41, 246–254.
19. Crider, K.S.; Bailey, L.B.; Berry, R.J. Folic Acid Food Fortification—Its History, Effect, Concerns, and Future Directions. *Nutrients* 2011, 3, 370–384.
20. Xiong, H.; Li, X.; Cheng, S.; Chen, P.; Guo, S.; Huang, X.; Lu, Y. Folate Status and Mortality in US Adults With Diabetes: A Nationally Representative Cohort Study. *Front. Cardiovasc. Med.* 2022, 9, 802247.
21. Liu, Y.; Geng, T.; Wan, Z.; Lu, Q.; Zhang, X.; Qiu, Z.; Li, L.; Zhu, K.; Liu, L.; Pan, A.; et al. Associations of Serum Folate and Vitamin B12 Levels With Cardiovascular Disease Mortality Among Patients With Type 2 Diabetes. *JAMA Netw. Open* 2022, 5, e2146124. [
22. Yan, L.J.; Zhang, F.R.; Zeng, Y.R.; Zheng, Y. Serum Folate and All-Cause Mortality is of Non-Linear Relationship Among Population with Chronic Kidney Disease: A Retrospective Cohort Study. *Int. J. Gen. Med.* 2021, 14, 2695–2702. [
23. Yetley, E.A.; Pfeiffer, C.M.; Phinney, K.W.; Fazili, Z.; Lacher, D.A.; Bailey, R.L.; Blackmore, S.; Bock, J.L.; Brody, L.C.; Carmel, R.; et al. Biomarkers of folate status in NHANES: A roundtable summary. *Am. J. Clin. Nutr.* 2011, 94, 303S–312S. [
24. Moore, E.M.; Ames, D.; Mander, A.G.; Carne, R.P.; Brodaty, H.; Woodward, M.C.; Boundy, K.; Ellis, K.A.; Bush, A.I.; Faux, N.G.; et al. Among vitamin B12 deficient older people, high folate levels are associated with worse cognitive function: Combined data from three cohorts. *J. Alzheimers Dis.* 2014, 39, 661–668. [

- 25.van den Donk, M.; Buijse, B.; van den Berg, S.W.; Ocke, M.C.; Harryvan, J.L.; Nagengast, F.M.; Kok, F.J.; Kampman, E. Dietary intake of folate and riboflavin, MTHFR C677T genotype, and colorectal adenoma risk: A Dutch case-control study. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 2005, 14, 1562–1566.
- 26.CDC. About National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). Available online: [https://www.cdc.gov/nchs/nhanes/about\\_nhanes.htm](https://www.cdc.gov/nchs/nhanes/about_nhanes.htm) (accessed on 23 February 2020).
- 27.CDC.Laboratory Procedures Manual. Available online: [https://www.cdc.gov/nchs/data/nhanes/nhanes\\_11\\_12/2011-12\\_laboratory\\_procedures\\_manual.pdf](https://www.cdc.gov/nchs/data/nhanes/nhanes_11_12/2011-12_laboratory_procedures_manual.pdf) (accessed on 25 February 2020).
- 28.CDC. NCHS Data Linked to NDI Mortality Files. Available online: <https://www.cdc.gov/nchs/data-linkage/mortality.htm> (accessed on 20 August 2022).
- 29.USDA. Food and Nutrient Database for Dietary Studies. Available online: <https://www.ars.usda.gov/northeast-area/beltsville-md-bhnrc/beltsville-human-nutrition-research-center/food-surveys-research-group/docs/fndds/> (accessed on 2 August 2022).
30. Ahluwalia, N.; Dwyer, J.; Terry, A.; Moshfegh, A.; Johnson, C. Update on NHANES Dietary Data: Focus on Collection, Release, Analytical Considerations, and Uses to Inform Public Policy. *Adv. Nutr.* 2016, 7, 121–134.
- 31.McNulty, H.; Strain, J.J.; Pentieva, K.; Ward, M. C(1) metabolism and CVD outcomes in older adults. *Proc. Nutr. Soc.* 2012, 71, 213–221.
- 32.Frosst, P.; Blom, H.J.; Milos, R.; Goyette, P.; Sheppard, C.A.; Matthews, R.G.; Boers, G.J.; den Heijer, M.; Kluijtmans, L.A.; van den Heuvel, L.P.; et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: A common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat. Genet.* 1995, 10, 111–113.
33. Wilcken, B.; Bamforth, F.; Li, Z.; Zhu, H.; Ritvanen, A.; Renlund, M.; Stoll, C.; Alembik, Y.; Dott, B.; Czeizel, A.E.; et al. Geographical and ethnic variation of the 677C>T allele of 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): Findings from over 7000 newborns from 16 areas world wide. *J. Med. Genet.* 2003, 40, 619–625.
- 34.McNulty, H.; Dowe, L.R.C.; Strain, J.J.; Dunne, A.; Ward, M.; Molloy, A.M.; McAnena, L.B.; Hughes, J.P.; Hannon-Fletcher, M.; Scott, J.M. Riboflavin lowers homocysteine in individuals homozygous for the MTHFR 677C>T polymorphism. *Circulation* 2006, 113, 74–80.
- 35.Horigan, G.; McNulty, H.; Ward, M.; Strain, J.J.; Purvis, J.; Scott, J.M. Riboflavin lowers blood pressure in cardiovascular disease patients homozygous for the 677C->T polymorphism in MTHFR. *J. Hypertens.* 2010, 28, 478–486.
- 36.Wilson, C.P.; Ward, M.; McNulty, H.; Strain, J.J.; Trouton, T.G.; Horigan, G.; Purvis, J.; Scott, J.M. Riboflavin offers a targeted strategy for managing hypertension in patients with the MTHFR 677TT genotype: A 4-y follow-up. *Am. J. Clin. Nutr.* 2012, 95, 766–772.
- 37.Ward, M.; Hughes, C.F.; Strain, J.J.; Reilly, R.; Cunningham, C.; Molloy, A.M.; Horigan, G.; Casey, M.; McCarroll, K.; O’Kane, M.; et al. Impact of the common MTHFR 677C>T polymorphism on blood pressure in adulthood and role of riboflavin in modifying the genetic risk of hypertension: Evidence from the JINGO project. *BMC Med.* 2020, 18, 318.
- 38.Kim, C.I.; Roe, D.A. Development of riboflavin deficiency in alcohol-fed hamsters. *Drug Nutr. Interact.* 1985, 3, 99–107.
- 39.Jiang, R.; Hu, F.B.; Giovannucci, E.L.; Rimm, E.B.; Stampfer, M.J.; Spiegelman, D.; Rosner, B.A.; Willett, W.C. Joint association of alcohol and folate intake with risk of major chronic disease in women. *Am. J. Epidemiol.* 2003, 158, 760–771.
- 40.Mills, J.L.; Molloy, A.M.; Reynolds, E.H. Do the benefits of folic acid fortification outweigh the risk of masking vitamin B12 deficiency? *BMJ* 2018, 360, k724.
- 41.Pfeiffer, C.M.; Hughes, J.P.; Lacher, D.A.; Bailey, R.L.; Berry, R.J.; Zhang, M.; Yetley, E.A.; Rader, J.I.; Sempos, C.T.; Johnson, C.L. Estimation of trends in serum and RBC folate in the U.S. population from pre- to postfortification using assay-adjusted data from the NHANES 1988–2010. *J. Nutr.* 2012, 142, 886–893.
- 42.Institute of Medicine (US) Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes and its Panel on Folate, Other B Vitamins, and Choline. *Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline.* Available online: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK114322/> (accessed on 23 May 2022).
- 43.Willet, W.C. *Nutritional Epidemiology*, 3rd ed.; Oxford University Press: New York, NY, USA, 2013.
- 44.Menke, A.; Muntner, P.; Batuman, V.; Silbergeld, E.K.; Guallar, E. Blood lead below 0.48 micromol/L (10 microg/dL) and mortality among US adults. *Circulation* 2006, 114, 1388–1394.