

**ENVOLVIMENTO DA VITAMINA B₁₂, DA HOMOCISTEÍNA E DO FOLATO NO
DESENVOLVIMENTO DA DEMÊNCIA**

**INVOLVEMENT OF B₁₂ VITAMIN, HOMOCYSTEIN AND FOLATE IN THE
DEVELOPMENT OF DEMENTIA**

**Leandro Pompermayer Olivo¹; Heryck José Stella²; Sônia Valéria Pinheiro Malheiros^{2,3};
Mércia Breda-Stella²**

¹ Acadêmico da Faculdade de Medicina de Jundiaí – FMJ, Jundiaí, SP, Brasil.

² Disciplina de Bioquímica e Biofísica – Departamento de Biologia e Fisiologia – Faculdade de Medicina de Jundiaí, C.P. 1295, Jundiaí, SP, 13202-550, Brasil.

³ Disciplinas de Bioquímica Geral, Bioquímica Fisiológica e Farmacologia – Centro Universitário Padre Anchieta - UniAnchieta, Jundiaí, SP, Brasil.

Autor Responsável:

Leandro Pompermayer Olivo. End: R. Fioravante Agnello nº 122, Lenheiro, Valinhos-SP, CEP: 13272-006. Fone: (19) 9201-8124 E-mail: leandro.olivo@uol.com.br

Palavras-chave: vitamina B₁₂, cobalamina, folato, homocisteína, demência

Key-words: vitamin B₁₂, cobalamin, folate, homocysteine, dementia

RESUMO

Demência é uma desordem caracterizada por uma perda insidiosa e progressiva de memória e de funções intelectuais, que leva a uma incapacidade de relacionamento e de independência para atividades do cotidiano. A variação da idade de início da demência e a variedade de tipos de declínio cognitivo sugerem que essa condição não é exclusiva do envelhecimento. Depressão, demência e declínio da função cognitiva estão frequentemente associados com deficiência de folato e vitamina B₁₂. A frequência de baixos níveis séricos da vitamina B₁₂ em pacientes com demência varia entre 29 e 47%. Já os níveis séricos de homocisteína são maiores nos homens e nos idosos. Níveis de homocisteína estão correlacionados com a idade e inversamente correlacionados com níveis de ácido fólico e vitaminas B₆ e B₁₂. Uma vez que a homocisteína é um marcador sensível para a deficiência de vitamina B₁₂, sua elevação pode ser um marcador de um processo patogênico, assim como a própria causa da patologia.

Imagina-se que deficiência na metilação na homocisteína tenha papel principal no desenvolvimento das doenças associadas à deficiência do complexo B. A apresentação clínica dessa hipovitaminose é polimórfica, podendo se manifestar em sinais hematológicos, neurológicos e/ou mentais. A carência de vitamina B₁₂ reduz a qualidade de vida do indivíduo, pois é progressiva e fatal, se não houver tratamento. A literatura científica dos últimos 10 anos dispõe de diversas definições para a deficiência de cobalamina, dependendo principalmente da população estudada e dos métodos de pesquisa utilizados. A variedade de sensibilidade e especificidade dos testes resulta em ausência de um padrão-ouro para diagnóstico dessa carência, especialmente se considerada a população idosa. O tratamento clássico para deficiência de cobalamina, particularmente nos casos não resultantes de carência dietética, é a administração parenteral – usualmente com injeções intramusculares – da vitamina, mas comumente na forma de cianocobalamina e, mais raramente, como hidroxicianocobalamina.

ABSTRACT

Dementia is a disorder characterized by an insidious and progressive loss of memory and intellectual functions, which leads to a failure of establishing relationships and to dependence. Differences of the age of onset of dementia and the kind of cognitive decline suggests that this condition is not unique to aging. Depression, dementia and cognitive decline are often associated with deficiency of folate and vitamin B₁₂. The frequency of low levels of B₁₂ in patients with dementia ranges from 29 to 47%. As for homocysteine, serum levels are higher in male and ancients. Levels of homocysteine are correlated with age and inversely correlated with those of folic acid and vitamins B₆ and B₁₂. Since homocysteine is a sensitive marker for vitamin B₁₂ deficiency, its increase may be a marker for pathogenic processes, as well as the very cause of the disease. It is thought that a defect in the homocysteine methylation plays a major role in the development of diseases associated with deficiencies of the B vitamin complex. The clinical presentation of this vitamin deficiency is polymorphic and can be manifested in hematological, neurological and / or mental signs. The lack of vitamin B₁₂ reduces the quality of life of the individual, it is progressive and may be fatal if left untreated. The scientific literature on the last 10 years carries several definitions for cobalamin deficiency, depending mainly on the population studied and the research methods used. The different sensitivities and specificities of the available tests results in the lack of a gold standard for diagnosis of this deficiency, especially if we consider the elderly population. The

classical treatment for cobalamin deficiency, particularly in cases not caused by dietary deficiency is the parenteral administration - usually by intramuscular injections - of vitamin, but generally in the form of cyanocobalamin and, less commonly, as hidroxicyanocobalamin.

INTRODUÇÃO E OBJETIVO

Demência é uma desordem caracterizada por uma perda insidiosa e progressiva de memória e de funções intelectuais, que leva a uma incapacidade de relacionamento e de independência (Clarke, 2006). A busca do aprimoramento da prevenção da demência é um importante desafio na pesquisa médica (Cummings, 2004).

A variação da idade de início da demência e a variedade de tipos de declínios cognitivos sugerem que essa condição não é exclusiva do envelhecimento. Uma hipótese é que essa patologia pode surgir em resposta a uma interrupção do suprimento sanguíneo a uma região específica do cérebro, atuando como um gatilho para o início desse declínio em pessoas susceptíveis (Clarke, 2006).

Em 1991, Clarke e col. associaram os altos índices de homocisteína com risco de doença cardiovascular (Clarke, 1991). Anos mais tarde, associaram esse mesmo aminoácido com indivíduos com diagnóstico histológico de doença de Alzheimer (Clarke, 1998), postulando a teoria da homocisteinemia na demência (Clarke, 2006).

Assim, este trabalho objetiva revisar o papel da vitamina B12 (cobalamina), da homocisteína e do folato na patogênese da demência, através da compreensão dos mecanismos bioquímicos envolvidos, da prevalência populacional, das doenças associadas, dos riscos concomitantes da carência de B12, quadro clínico e dos métodos diagnósticos, com suas respectivas especificidades e sensibilidades.

MATERIAIS E MÉTODOS

Essa revisão contou com a leitura de 55 artigos científicos relacionados com o tema, obtidos a partir de pesquisas na base de dados Scielo e PubMed, assim como a leitura das referências bibliográficas dos artigos selecionados. Para a pesquisa foram utilizadas as palavras-chave: homocisteína, folato, deficiência de vitamina B₁₂, cobalamina e demência, tanto na língua portuguesa como na inglesa.

DISCUSSÃO

Metabolismo da Vitamina B12 (cobalamina) e do Folato

O folato e a vitamina B₁₂ têm papel fundamental na função do SNC em todas as idades, especialmente na conversão da homocisteína em metionina, essencial para síntese de nucleotídeos e para processos de metilação genômicos e não-genômicos. Ácido fólico e vitamina B₁₂ podem também promover a prevenção de alterações do SNC, de humor e demências (incluindo a doença de Alzheimer e a demência vascular) em idosos (Reynolds, 2006).

A síntese da vitamina B₁₂ não é realizada por animais ou plantas, sendo esta função restrita a alguns microrganismos. Os humanos são incapazes de sintetizar esta vitamina e, portanto, completamente dependentes da dieta para sua obtenção (Futterleib, 2005).

Homocisteína é um aminoácido derivado da ingestão de metionina, a qual é encontrada em queijos, ovos, peixe, carne e aves. É tóxica aos neurônios e vasos sanguíneos e pode induzir alterações no DNA, estresse oxidativo e apoptose (Lipton et al, 1997; Mattson e Shea, 2003). Os intermediários do metabolismo da metionina-homocisteína são *S-adenosilmetionina* e *S-adenosil-homocisteína*. O processo metabólico produz grupos metil necessários para síntese de catecolaminas e do DNA, sendo finalizado pela re-metilação da homocisteína, formando novamente metionina, com uso da vitamina B₁₂ e folato como co-fatores (Smith, 2007). A eliminação da homocisteína ocorre pela transformação em cisteína e glutatona, um importante antioxidante, requerendo B₆ e B₁₂ (Folstein et al, 2007).

A conversão do 5-metil-tetrahidrofolato para tetrahidrofolato gera os grupamentos metílicos necessários para conversão da homocisteína em metionina (vide Figura 1). A vitamina B₁₂ atua como co-fator para síntese de metionina. Quando sua concentração está baixa, ocorre o aprisionamento do folato metilado, destinado à síntese de DNA no ciclo da metionina (hipótese do aprisionamento do folato) (Hebert e Zalusky, 1962; Varela-Moreiras et al, 2009).

A síntese de homocisteína a partir da metionina e sua degradação à metionina (ciclo homocisteína-metionina) ou à cistationina estão representados na Figura 1.

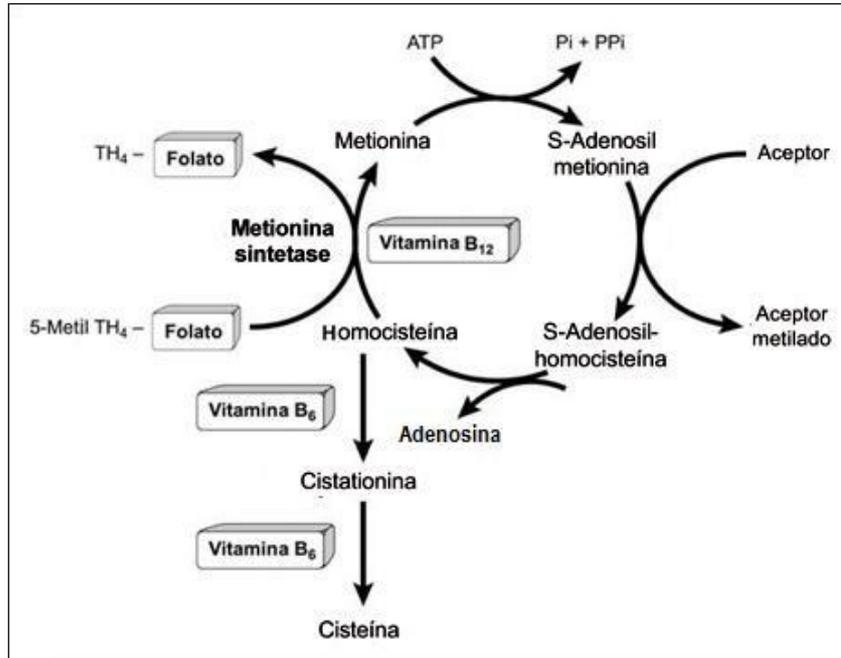


Figura 1: Metabolismo da Homocisteína (Fonte: adaptado de Troyer, 2007)

Os níveis dos componentes do ciclo homocisteína-metionina, assim como a cisteína, a glutatona e as enzimas desse processo metabólico, sofrem efeito de variação genética, da dieta, doenças renais e gastrointestinais e de diversas drogas (Folstein et al, 2007).

Uma vez que a homocisteína é um marcador sensível para deficiência de vitamina B₁₂, sua elevação pode ser um marcador de um processo patogênico, assim como a própria causa da patologia (Folstein, 2007).

Prevalência

Os níveis séricos de homocisteína são maiores nos homens e nos idosos (Marengoni et al, 2004). Níveis aumentados de homocisteína foram correlacionados com a idade e inversamente correlacionados com os de ácido fólico e vitaminas B₆ e B₁₂ (Selhub, 1993). Isso poderia ser explicado por uma diminuição da ingestão de vitaminas B₆, B₁₂ e ácido fólico, uma perda progressiva da função renal e uma diminuição da atividade da cistationina B-sintase (Garcia et al 2001). No *Framingham Heart Study*, que contou com 1.160 adultos de 67 a 96 anos de idade, um nível elevado de homocisteína (> 14 mmol / litro) estava presente em 29,3% dos casos. Em outro estudo, com mulheres de idade entre 15 a 44 anos, 13% das amostras tinham níveis elevados de homocisteína plasmática total, definida como uma concentração $\geq 10,0$ mmol / litro (Giles et al, 1999). No entanto, para a população feminina é esperada uma elevação da homocisteinemia no período pós-menopausa, igualando-se à da população masculina na faixa etária correspondente, o que está diretamente relacionado com a diminuição de estrógenos (Garcia et al 2001).

Além da idade avançada e da prevalência no sexo masculino a hiperhomocisteinemia tem sido associada ao aumento da creatinina sérica e menor pontuação no teste de avaliação cognitiva *Mini Mental State Examination* (Marengoni, 2004).

As causas de deficiência de cobalamina estão representadas na Figura 2.

A má- absorção alimentar é comum na população de maior idade. Cerca de 30-40% da população idosa apresenta má absorção da vitamina B₁₂ nos principais alimentos onde está presente (de Meer et al, 2005; Varela-Moreiras et al, 2009). Estudos mais recentes afirmam que esta porcentagem pode alcançar até 53% (Andrés et al, 2009). Este fato se deve à atrofia gástrica caracterizada pela incapacidade de liberar a cobalamina dos alimentos ou à deficiência de transportadores intestinais (Carmel, 1997; Varela-Moreiras et al, 2009).

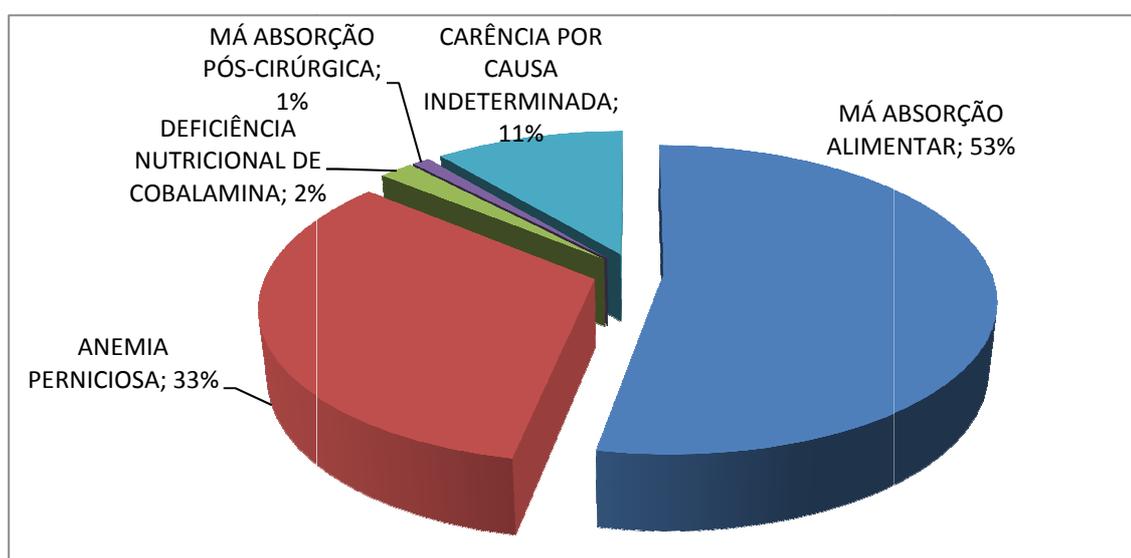


Figura 2: Causas de deficiência de Cobalamina em idosos (Andrés et al, 2009)

A baixa ingestão diária de vitamina B₁₂ e folato vem se tornando um problema de saúde pública nos países desenvolvidos e em desenvolvimento, agravada ainda mais na população idosa pelas alterações gastrointestinais que tendem a piorar com o envelhecimento da população (Clarke, 2006). Estima-se que a prevalência da carência de cobalamina na população idosa varie entre 5-25%. (Scientific Advisory Committee on Nutrition, 2006 ; Varela-Moreiras et al, 2009).

Cerca de 11% dos casos de deficiência de vitamina B₁₂ resultam de causa indeterminada, 33% são decorrentes de anemia perniciosa, à dieta insuficiente, 2% de erro alimentar, 1% é devido a má-absorção pós-cirúrgica e os demais estão associados a doenças hereditárias do metabolismo da cobalamina (Futterleib, 2005; Andrés et al, 2009).

Existem medicamentos, condições sistêmicas e fatores comportamentais que também interferem no metabolismo da vitamina B₁₂, da homocisteína e do ácido fólico. Conforme

dados obtidos em estudo da Sociedade Germânica, Austríaca e Suíça de Homocisteína, drogas como metformina, omeprazol, levodopa e ciclosporina A causam elevação nos níveis de homocisteína no plasma. Condições sistêmicas como psoríase, leucemia linfocítica aguda, artrite reumatóide, hipotireoidismo, deficiência renal e fatores comportamentais como tabagismo, alcoolismo e hábito de ingerir café contribuem para o aumento da homocisteína plasmática (Stanger et al, 2004; Futterleib, 2005).

Alguns estudos encontraram níveis elevados de homocisteína na doença de Alzheimer (Clarke et al, 1998; Seshadri et al 2002) e no comprometimento cognitivo (Wright et al, 2004), mas outros não (Kalmij, 1999; Luchsinger et al, 2004).

Depressão, demência e declínio da função cognitiva estão frequentemente associados com deficiência de folato e vitamina B₁₂ (Fassbender et al, 1999; Goebels et al, 2000; Wolters, 2004). A frequência de baixos níveis de B₁₂ em pacientes com demência varia entre 29 a 47% (Goebels et al, 2000).

Fisiopatologia da Demência por Carência de B₁₂

Relatos históricos, de 1918, descrevem uma degeneração perivascular e uma degeneração focal de mielina em cérebros de pacientes com anemia perniciosa (Woltman, 1918; Adams, 1944). Imagens de ressonância magnética na deficiência de B₁₂ podem algumas vezes mostrar uma desmielinização disseminada, similar à encontrada na esclerose múltipla (Haan et al, 1987).

Imagina-se que um defeito na metilação na homocisteína tem papel fundamental no estabelecimento das patologias associadas à deficiência do complexo B (Bottiglieri, 1996).

Associado a este fato, a hiperhomocisteinemia é um fator independente de risco cardiovascular, associado à microangiopatia cerebral (Fassbender et al, 1999), sendo esta considerada a base para o desenvolvimento da demência vascular. Altos níveis de homocisteína podem também acarretar uma produção excessiva de ácido sulfídrico, que atua como antagonista endógeno de receptores da N-metil-D-aspartato podendo prejudicar as funções cognitivas através de mecanismos citotóxicos (Parneti et al, 1997).

Quadro Clínico

A apresentação clínica é bastante polimórfica, podendo se manifestar em sinais hematológicos, neurológicos e/ou mentais. A Tabela 1 mostra, resumidamente, os principais transtornos relacionados com a deficiência de B₁₂ (Goebels et al, 2000).

Tabela 1: Sinais da carência de Vitamina B₁₂ (Goebels et al, 2000)

<u>HEMATOLÓGICOS</u>	<u>NEUROLÓGICOS</u>	<u>MENTAIS</u>
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Macrocitose ▪ Anemia 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Neuropatia <ul style="list-style-type: none"> ○ Parestesia distal ▪ Mielopatia <ul style="list-style-type: none"> ○ Redução sensitiva vibratória e posicional ○ Sinal de Lhermitte ○ Fraqueza simétrica dos membros ○ Outros defeitos piramidais ▪ Encefalopatia ▪ Atrofia ótica 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Mudanças no Humor <ul style="list-style-type: none"> ○ Agitação ○ Depressão ○ Mania ▪ Episódios psicóticos <ul style="list-style-type: none"> ○ Paranóia ○ Alucinações visuais e auditivas ▪ Deficiência cognitiva <ul style="list-style-type: none"> ○ Cansaço ○ Confusão ○ Desorientação ○ Déficit de memória ○ <u>Demência</u>

Pode-se ter, também, diferentes graus de severidade, que variam desde condições leves como cansaço, neuropatia sensorial, glossite atrófica (glossite de Hunter) e anomalias hematológicas como macrocitose e hipersegmentação de neutrófilos, até condições mais severas, incluindo esclerose combinada da medula espinhal, anemia hemolítica e pancitopenia (Dharmarajan et al, 2003; Andrès et al, 2005; Futterleib, 2005; Andrès et al, 2006; Carmel e Sarrai, 2006; Andrès et al, 2009).

A carência de vitamina B₁₂ reduz a qualidade de vida do indivíduo, pois é progressiva e fatal, se não houver tratamento. Anos de absorção inadequada são necessários para o esgotamento das reservas de B₁₂ do organismo, mas, a partir desse fato, a anemização é rápida (Futterleib, 2005).

Já as manifestações bucais da deficiência de B₁₂ podem consistir em úlceras aftosas que, embora sejam freqüentes nesses pacientes, também podem estar associadas a fatores imunológicos, trauma local, estresse, níveis hormonais, história familiar, hipersensibilidade a alimentos e infecções (Weusten e Wiel, 1998).

As manifestações clínicas decorrentes da deficiência de vitamina B₁₂ podem ter origem em alterações do DNA. O ácido fólico é um componente fundamental na prevenção de rupturas cromossômicas e hipometilação do DNA, mecanismo este (metilação) de reparo cromossômico que é comprometido quando a concentração de vitamina B₁₂ é baixa. Estudos

in vivo demonstraram que a deficiência de vitamina B₁₂ e elevados níveis de homocisteína têm forte correlação com o aumento da formação de micronúcleos (Fenech, 2001).

Diagnóstico

A literatura científica dos últimos 10 anos dispõe de diversas definições para a deficiência de cobalamina, dependendo principalmente da população estudada e dos métodos de pesquisa utilizados. A variedade de sensibilidades e especificidades dos testes resulta em uma ausência de um padrão-ouro para diagnósticos dessa carência, especialmente para a população idosa (Andrés et al, 2009).

O diagnóstico da deficiência de vitamina B₁₂ pode ser feito a partir de seus valores séricos, bem como dos níveis de homocisteína e de ácido metilmalônico, dois componentes da via metabólica da cobalamina. Altos níveis de homocisteína também podem ser causados por deficiência de folato e vitamina B₆. Segundo Andrès (Andrés et al, 2009), os indicadores séricos de deficiência de vitamina B₁₂ são: nível sérico de vitamina B₁₂ menor que 150 pmol/L em dois momentos diferentes; ou (2) nível sérico de vitamina B₁₂ menor que 150 pmol/L e nível sérico total de homocisteína maior que 13 µmol/L; ou (3) ácido metilmalônico acima de 0,4 µmol/L na ausência de doença renal ou deficiência de folato e vitamina B₆ (Futterleib, 2005).

Carmel e colaboradores (Carmel et al, 1999) pesquisaram as características demográficas de idosos norte-americanos negros (nascidos nos Estados Unidos ou Caribe), latinos (nascidos nos Estados Unidos, México ou América Central), brancos (com descendência européia) e asiáticos (chineses, coreanos, vietnamitas, japoneses e filipinos) com deficiência de vitamina B₁₂, bem como a associação desta com a hiperhomocisteinemia. O nível sérico de cobalamina e as concentrações de homocisteína e ácido metilmalônico foram avaliados. Níveis de cobalamina inferiores a 140 pmol/L ocorreram em 70 (11,8%) de 581 indivíduos, e níveis elevados de homocisteína foram encontrados em 154 (26,1%) de 591 indivíduos. Os resultados exibiram correlação negativa entre a concentração de homocisteína e a de cobalamina ($r = -0,34$, $p < 0,001$). O teste de regressão logística mostrou que o índice de cobalamina inferior a 140 pmol/L é um sinal preditivo para hiperhomocisteinemia. Concentrações elevadas de ácido metilmalônico foram verificadas em 97 (16,6%) de 583 indivíduos (Carmel et al, 1999).

As deficiências de folato e cobalamina geralmente são detectadas por anormalidades hematológicas como anemia macrocítica megaloblástica ou hipersegmentação de neutrófilos (Futterleib, 2005). Assim, Thompson e col. avaliaram a sensibilidade e a especificidade da

amplitude de distribuição dos eritrócitos (RDW), do volume corpuscular médio (VCM) e da hipersegmentação de neutrófilos para diagnóstico de deficiência de vitamina B₁₂. No estudo, foram avaliados 515 pacientes, sendo que em 61 deles o nível de B₁₂ foi inferior a 200 pg/ml. Destes, 43 foram diagnosticados como portadores de deficiência de vitamina B₁₂. A hipersegmentação de neutrófilos exibiu 91% de sensibilidade; o VCM maior que 95 fl teve sensibilidade de 62% e o RDW maior que 15 teve 54% de sensibilidade para detectar deficiência de vitamina B₁₂ (Thompson et al, 1989).

Tratamento

O tratamento clássico para deficiência de cobalamina, particularmente nos casos onde a causa não é por carência dietética, é a administração parenteral – usualmente com injeções intramusculares – da vitamina, mais comumente na forma de cianocobalamina e, mais raramente, como hidroxianocobalamina (Lane e Rojas-Fernandez, 2002; Dharmarajan et al, 2003; Andrés et al, 2009).

O tratamento envolve administração de 1.000 μ g de cianocobalamina/dia por 1 semana, seguido por 1.000 μ g /semana por 1 mês e depois 1.000 μ g/mês, pelo resto da vida do paciente (Andrès et al, 2009).

A reposição parenteral da B₁₂ promove, em alguns pacientes, significativa melhora das condições mentais (Futterleib, 2005).

As vias alternativas para administração de cobalamina que têm sido usadas são oral (Elia, 1998; Andrès et al, 2001; Andrès et al, 2003; Bolaman et al, 2003; Andrès et al 2006; Butler et al, 2006) e nasal (Slot et al, 1997; van Asselt et al, 1998).

CONCLUSÃO

A demência por déficit de B₁₂ é uma enfermidade que predomina em homens, idosos e é decorrente principalmente da má absorção decorrente da senescência e por erros alimentares, diminuindo a qualidade de vida do portador.

O quadro clínico demencial pode estar acompanhado de outros sinais de baixa concentração sérica de cobalamina e folato, tais como alterações hematológicas (anemia megaloblástica), sinais psicológicos (parestésias, fraqueza simétrica dos membros, encefalopatia) e mentais (alteração de humor, cansaço, paranóia, depressão).

Devido à ausência de um método diagnóstico ideal, deve-se considerar o déficit nutricional através da avaliação sérica da cobalamina, da homocisteína e do ácido metilmalônico, metabólitos que se acumulam na carência de B₁₂, nas reações onde é co-fator enzimático. Considera-se normal cobalamina < 150 pmol/L, homocisteína 13 μ mol/L e ácido metilmalônico > 0,4 μ mol/L. O tratamento baseia-se na oferta de cianocobalamina, tanto por via parenteral (clássica), como por via nasal/oral, todas com boa resposta e melhora do quadro de demência.

REFERÊNCIAS

- Adams RD, Kubik CS. Subacute degeneration of the brain in pernicious anemia. *N Engl J Med* 231:1–9, 1944.
- Agamanolis DP, Victor M, Harris JW et al. An ultrastructural study of subacute combined degeneration of the spinal cord in vitamin B12-deficient rhesus monkeys. *J Neuropathol Exp Neurol* 37:273–299, 1978.
- Allen RH, Stabler SP, Savage DG, et al. Metabolic abnormalities in cobalamin (vitamin B12) and folate deficiency. *FASEB J* 7:1344–1353, 1993.
- Andrès E, Kaltenbach G, Noel E et al. Efficacy of short-term oral cobalamin therapy for the treatment of cobalamin deficiencies related to food-cobalamin malabsorption. A study of 30 patients. *Clin Lab Haematol* 25: 161-6, 2003.
- Andrès E, Kurtz JE, Perrin AE et al. Oral cobalamin therapy for the treatment of patients with food-cobalamin malabsorption. *Am J Med* 111: 126-9, 2001.
- Andrés E, Loukili NH et al. Update of Food-Cobalamin Malabsorption and Oral Cobalamin Therapy. *The Open General and Internal Medicine Journal*. 3,4-10, 2009.
- Andrès E, Kaltenbach G, Noblet-Dick M, et al. Hematological response to short-term oral cyanocobalamin therapy for the treatment of cobalamin deficiencies in elderly patients. *J Nutr Health Aging*. 10: 3-6, 2006.
- Andrès E, Affenberger S, Vinzio S et al. Food-cobalamin malabsorption in elderly patients: clinical manifestations and treatment. *Am J Med* 118: 1154-59, 2005.
- Andrès E, Affenberger S, Zimmer J et al. Current hematological findings in cobalamin deficiency. A study of 201 consecutive patients with documented cobalamin deficiency. *Clin Lab Haematol* 28: 50-6, 2006.
- van Asselt DZ; Merkus FW; Russel FG; Hoefnagels WH. Nasal absorption of hydroxocobalamin in healthy elderly adults. *Br J Clin Pharmacol* 45: 83-6, 1998.

- Bolaman Z, Kadikoylu G, Yukselen V et al. Oral versus intramuscular cobalamin treatment in megaloblastic anemia: a single-center, prospective, randomized, openlabel study. *Clin Ther* 25: 3124-34, 2003.
- Bottiglieri T. Folate, vitamin B12, and neuropsychiatric disorders. *Nutr Rev* 54:382–390, 1996.
- Butler CC, Vidal-Alaball J, Cannings-John R et al. Oral vitamin B12 versus intramuscular vitamin B12 for vitamin B12 deficiency: a systematic review of randomized controlled trials. *Fam Pract* 23: 279-85, 2006.
- Carmel R; Sarrai M. Diagnosis and management of clinical and subclinical cobalamin deficiency: advances and controversies. *Curr Hematol Rep* 5: 23-33, 2006.
- Carmel R, Green R, Jacobsen DW et al. Serum cobalamin, homocysteine, and methylmalonic acid concentrations in a multiethnic elderly population: ethnic and sex differences in cobalamin and metabolite abnormalities 1-3. *Am J Clin Nutr.* 70:904-10, 1999.
- Carmel R. Cobalamin, the stomach, and aging. *Am J Clin Nutr.* 66:750–759, 1997
- Clarke R. Vitamin B12, folic acid, and the prevention of dementia. *N Engl J Med.* 29;354(26):2764-72, 2006.
- Clarke R, Smith AD, Jobst KA et al. Folate, vitamin B12, and serum total homocysteine levels in confirmed Alzheimer disease. *Arch Neurol* 55:1449– 1455, 1998.
- Clarke R, Daly L, Robinson K et al. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med* 324:1149-1155, 1991.
- Cummings JL. Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 351:56-67, 2004.
- Dharmarajan TS, Adiga GU, Norkus EP. Vitamin B12 deficiency. Recognizing subtle symptoms in older adults. *Geriatrics* 58:30-8, 2003.
- Elia M. Oral or parenteral therapy for B12 deficiency. *Lancet* 352: 1721-2, 1998.
- Fassbender K, Mielke O, Bertsch T et al. Homocysteine in cerebral macroangiopathy and microangiopathy (letter). *Lancet* 353:1586–1587, 1999.
- Fenech M. The role of folic acid and Vitamin B12 in genomic stability of human cells. *Mutat Res.* 457:57-67, 2001.
- Folstein M, Liu T, Peter I et al. Homocysteine and depression. *Am J Psychiatry* 164:861–867, 2007.
- Futterleib A, Cherubini X. Importância da vitamina B12 na avaliação clínica. *Scientia Medica*, v. 15, n. 1, 2005.

- Garcia IS, Cerezo JFG, Ríos JJ et al. La homocisteína: ¿ El factor de riesgo cardiovascular del próximo milenio. *Ann Med Interna*, 18(4): 211-217, 2001.
- Giles WH, Kittner SJ, Croft JB et al. Distribution and correlates of elevated total homocyst(e)ine: the Stroke Prevention in Young Women Study. *Ann Epidemiol* 9:307–313, 1999.
- Haan J, Haupts M, Uhlenbrock D. Magnetic resonance imaging (MRI), cranial computerized tomography (CCT), evoked potentials and cerebrospinal fluid (CSF) analysis in five patients with funicular myelosis. *Neurosurg Rev* 10:209–211, 1987.
- Herbert V; Zalusky R. Interrelations of vitamin B12 and folic acid metabolism: folic acid clearance studies. *J Clin Invest*. 41:1263–1276, 1962.
- Kalmijn S, Launer LJ, Lindemans J et al. Total homocysteine and cognitive decline in a community- based sample of elderly subjects: the Rotterdam Study. *Am J Epidemiol* 150:283–289, 1999.
- Lane LA, Rojas-Fernandez C. Treatment of vitamin B12 deficiency anemia: oral versus parenteral therapy. *Ann Pharmacother* 36: 1268-72, 2002.
- Lipton SA; Kim WK; Choi YB; Kumar S; D’Emilia DM; Rayudu PV; Arnelle DR; Stamler JS: Neurotoxicity associated with dual actions of homocysteine at the N-methyl-D-aspartate receptor. *Proc Natl Acad Sci* 94:5923–5928, 1997.
- Luchsinger JA, Tang MX, Shea S et al. Plasma homocysteine levels and risk of Alzheimer disease. *Neurology* 62:1972–1976, 2004.
- Marengoni A, Cossi S, De Martinis M et al. Homocysteine and disability in hospitalized geriatric patients. *Metabolism* 53:1016–1020, 2004.
- Mattson MP, Shea TB: Folate and homocysteine metabolism in neural plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neurosci* 26:137–146, 2003.
- de Meer K; Finglas PM; Molloy A et al. Position paper: goals for folate and related vitamins in Europe and the developing world. *Eur J Clin Nutr*. 34:187–193, 2005.
- Metz J. Cobalamin deficiency and the pathogenesis of nervous system disease. *Annu Rev Nutr* 12:59–79, 1992.
- Norbert Goebels, Soyka M. Dementia Associated With Vitamin B12 Deficiency: Presentation of Two Cases and Review of the Literature. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 12:3, 2000.
- Parnetti L, Bottiglieri T, Lowenthal D. Role of homocysteine in age-related vascular and non-vascular diseases. *Aging (Milano)* 9:241–257, 1997.

- Reynolds E. Vitamin B12, folic acid, and the nervous system. *Lancet Neurol.* Nov;5(11):949-60, 2006.
- Scalabrino G, Monzio Compagnoni B, Ferioli ME et al. Subacute combined degeneration and induction of ornithine decarboxylase in spinal cords of totally gastrectomized rats. *Lab Invest* 62:297–304, 1990.
- Scientific Advisory Committee on Nutrition (SACN). Folate and disease prevention (Report). London: Food Standards Agency (UK); 2006.
- Selhub J, Jacques PF, Wilson PW et al. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 270:2693–2698, 1993.
- Seshadri S, Beiser A, Selhub J et al. Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 346:476–483, 2002.
- Slot WB, Merkus FW, Van Deventer SJ, Tytgat GN. Normalization of plasma vitamin B12 concentration by intranasal hydroxocobalamin in vitamin B12-deficient patients. *Gastroenterology* 113: 430-3, 1997.
- Smith C, Marks AD, Lieberman M. *Bioquímica médica básica de Marks*. Porto Alegre: Artmed, 2007.
- Stanger O, Herrmann W, Pietrzik K et al. DACH- LIGA homocystein (German, Austrian and Swiss homocysteine society): Consensus paper on the rational clinical use of homocysteine, folic acid and B-vitamins in cardiovascular and thrombotic diseases: guidelines and recommendations. *Clin Chem Lab Med.* 41(11):1392-403, 2003.
- Thompson WG, Cassino C, Babitz L et al. Hypersegmented neutrophils and vitamin B12 deficiency. Hypersegmentation in B12 deficiency. *Acta Haematol.* 81:186-91, 1989.
- Varela-Moreiras G, Murphy MM, Scott JM. Cobalamin, folic acid, and homocysteine. *Nutrition Reviews* Vol. 67(Suppl. 1):S69–S72, 2009.
- Wolters M, Ströhle A, Hahn A. Altersassoziierte veränderungen im vitamin-B12 und folsäurestoff wechsel: prävalenz, atiopathogenese und pathophysiologische konsequenzen. *Z Gerontol Geriatr.* 37:109-35, 2004.
- Woltman HW. Brain changes associated with pernicious anemia. *Arch Intern Med* 21:791–843, 1918.
- Wright CB; Lee HS, Paik MC; Stabler SP; Allen RH; Sacco RL: Total homocysteine and cognition in a tri-ethnic cohort: the Northern Manhattan Study. *Neurology* 63:254–260, 2004.
- Weusten BLMA, Wiel A. Aphthous ulcers and vitamin B12 deficiency. *Neth J Med.* 53:172-5, 1998.