



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO
GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO
INTEGRADO EM MEDICINA**

CLÁUDIA PATRÍCIA CANTEIRO RODRIGUES

***DEFICIÊNCIA DA VITAMINA B₁₂ COMO UM FATOR
DE RISCO NA DEMÊNCIA DO IDOSO***

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE GERIATRIA

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:
PROFESSOR DOUTOR MANUEL TEIXEIRA VERÍSSIMO**

MARÇO 2015

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	2
ÍNDICE DE TABELAS	2
LISTA DE ABREVIATURAS.....	3
RESUMO	4
ABSTRACT	6
INTRODUÇÃO.....	8
MATERIAIS E MÉTODOS.....	11
REVISÃO SOBRE A VITAMINA B ₁₂ E O ÁCIDO FÓLICO.....	12
Metabolismo da vitamina B ₁₂ e do Folato.....	12
Prevalência.....	14
Fisiopatologia da demência por carência de B ₁₂	17
Quadro clínico	18
Diagnóstico	19
Tratamento	21
RESULTADOS	22
Resumo dos estudos incluídos.....	22
Avaliação da qualidade e dos resultados.....	23
Declínio cognitivo e níveis de vitamina B ₁₂ em pacientes sem demência	23
Declínio cognitivo e níveis de vitamina B ₁₂ em indivíduos com alterações cognitivas inespecíficas	27
Desenvolvimento de demência em indivíduos sem demência inicialmente.....	28
Declínio cognitivo em indivíduos com demência	28
DISCUSSÃO	36
CONCLUSÃO.....	42
AGRADECIMENTOS	43
REFERÊNCIAS	44

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 - “Metabolismo da homocisteína”	14
FIGURA 2 - “Causas de deficiência de cobalamina em idosos”	16

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1 - “Sinais da carência de vitamina B12”	18
TABELA 2 - “Associação entre os níveis de vitamina B ₁₂ e o declínio cognitivo em indivíduos sem demência”	25
TABELA 3 - “Relação entre os níveis de vitamina B ₁₂ e o declínio cognitivo em população com nível de cognição não especificado”	29
TABELA 4 - “Associação entre os níveis de vitamina B12 e o desenvolvimento de demência em indivíduos sem demência inicialmente”	31
TABELA 5 - “Relação entre os níveis de vitamina B12 e o desenvolvimento de doença de Alzheimer em indivíduos sem demência”	33
TABELA 6 - “Relação entre os níveis de vitamina B12 e o declínio cognitivo em indivíduos com demência ou doença de Alzheimer”	35

LISTA DE ABREVIATURAS

ONU: Organização das Nações Unidas

OMS: Organização Mundial de Saúde

SNC: Sistema Nervoso Central

DNA: Ácido desoxirribonucleico

RDW: *Red Cell Distribution Width*

VCM: Volume Corpuscular Médio

AMM: Ácido Metilmalónico

holoTC: Holotranscobalamina

tHcy: Homocisteína total

MMSE: *Mini Mental State Examination*

RESUMO

A doença demencial tem alcançado proporções epidêmicas, atingindo 4,6 milhões de indivíduos por ano no mundo. Com uma população cada vez mais envelhecida, a prevalência da demência irá aumentar dramaticamente nas próximas décadas. Embora a idade possa estar fortemente relacionada com o desenvolvimento de demência, essa doença não é uma parte inevitável do envelhecimento, mas uma doença com os seus fatores de risco genéticos e não genéticos. A prevenção será então possível quando forem identificados os fatores de risco não genéticos. Alguns fatores de risco já foram sugeridos, mas ainda não foram todos comprovados por estudos de investigação. As baixas concentrações de vitaminas B (folatos, vitamina B₁₂ e vitamina B₆) são um possível fator de risco no desenvolvimento de demência vascular e de doença de Alzheimer.

Objetivo: Realizar uma revisão da literatura sobre o declínio cognitivo associado aos níveis de vitamina B

Métodos: Foram pesquisados artigos na língua inglesa, portuguesa, francesa e espanhola através das bases de dado *PubMed* e *Google académico*. Todos os estudos prospetivos, avaliando a associação entre os níveis de vitamina B₁₂ ou seus biomarcadores e cognição, foram incluídos.

Resultados: Foram identificados e avaliados trinta e cinco estudos de coorte. Vinte e um estudos de qualidade positiva não confirmaram o papel dos níveis de vitamina B₁₂ na etiologia de demência ou na deterioração cognitiva. Apenas sete estudos de

qualidade positiva, demonstraram a associação entre os níveis de vitamina B₁₂ e o declínio cognitivo, demência ou doença de Alzheimer.

Conclusão: No geral, os estudos foram de qualidade razoável mas com duração de seguimento e número de amostra inadequados para determinar se existe realmente uma relação entre o nível de vitamina B₁₂ sérico e a cognição ou demência.

Palavras-chave: Vitamina B; Vitamina B₁₂; Cognição; Demência; Deterioração cognitiva.

ABSTRACT

Dementia has reached epidemic proportions, with an estimated 4.6 million new cases worldwide each year. With an aging world population, the prevalence of dementia will increase dramatically in the next few decades. Although strongly age-related, dementia is not an inevitable part of aging but is a true disease, caused by exposure to several genetic and nongenetic risk factors. Prevention will be possible when the nongenetic risk factors have been identified. Some risk factors have been postulated, but very few have been established by studies. Low concentrations of B vitamins (folate, vitamin B₁₂ and vitamin B₆) are candidate risk factors for both Alzheimer's disease and vascular dementia.

Objective: To conduct a literature review, about the cognitive decline associated with vitamin B status.

Methods: Articles were search in English, Portuguese, French and Spanish in PubMed and Google academy databases. All prospective cohort studies assessing the association of serum vitamin B₁₂ or biomarkers with cognition were included.

Results: Thirty-five cohort studies were identified and evaluated. The twenty-one studies of positive quality, does not support a role for the association of serum vitamin B₁₂ concentrations in the etiology of cognitive impairment or dementia. Seven studies of positive quality, found significant association between vitamin B₁₂ status and cognitive decline, dementia or Alzheimer's disease.

Conclusion: In general, the studies were of reasonable quality but of short duration and inadequate subject number to determine whether an effect exists between serum vitamin B₁₂ and cognition or dementia.

Key words: Vitamin B; Vitamin B₁₂; Cognition; Dementia; Cognitive impairment;

INTRODUÇÃO

O envelhecimento da população global é um evidente fenómeno, produto da diminuição da natalidade e aumento da expectativa de vida. A organização das Nações Unidas (ONU), mostrando constante preocupação com o impacto dessa realidade nos diversos sectores, em especial no da saúde, realizou em 2001 uma assembleia mundial para debater o tema. Estima-se, que em todo o mundo, a proporção de pessoas acima de 65 anos aumente de 5.2% em 1950 para 15.6% em 2050, um universo de quase um bilhão e meio de indivíduos[1].

Esse envelhecimento da população é acompanhado por um aumento das doenças neurodegenerativas, sendo a demência o distúrbio mais frequente dos idosos.

The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM) define a demência como o comprometimento adquirido da memória, associado a perda de pelo menos uma das outras funções cognitivas como linguagem, agnosias, praxias ou funções executivas (memória a curto prazo, organização e inibição), interferindo na capacidade funcional e, no desempenho social e profissional dos indivíduos.[2]

A prevalência de demência no mundo é um assunto de saúde pública, e esta fortemente relacionada com a idade populacional: 0,5% entre os 60 e 65 anos, 1.5% entre os 65 e 69 anos, 3% entre os 70 e 74 anos, 6% entre os 75 e 79 anos, 12% entre os 80 e 84 anos, e 25% entre os 85 e 89 anos de idade, podendo atingir os 50% quando a idade é superior a 95 anos. [3]

A investigação, com o objetivo de melhorar a prevenção da demência é por isso, um importante desafio na pesquisa médica

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que o número total de pessoas com demência a nível mundial em 2010 fosse de 35.6 milhões, e faz uma projeção de 65.7 milhões de casos para 2030, e 115.4 milhões para 2050. O número mundial total de novos casos de demência cada ano é de aproximadamente de 7.7 milhões, havendo um caso novo a cada quatro segundos. Na Europa foram estimados 10 milhões de casos de demência em 2010, e estima-se que haverá 14 milhões em 2030 (estudos baseados na população do Reino Unido).[4]

Para além da forte relação com a idade, a demência não é uma inevitável parte do envelhecimento, mas sim uma verdadeira doença, podendo ser de etiologia genética e não genética. A prevenção torna-se possível quando os fatores de risco não genéticos forem identificados. Para além da idade, mais de 20 fatores de risco não genéticos foram postulados, mas muitos poucos foram comprovados por estudos randomizados. Concentrações sanguíneas elevadas de homocisteína e baixos níveis de vitaminas B (folato, vitamina B₁₂ e vitamina B₆) são candidatos a fatores de risco na doença de Alzheimer e na demência vascular. [5]

A deficiência de vitamina B₁₂ (concentração plasmática de vitamina B₁₂ <148pmol/L) é frequente no mundo inteiro e varia dentro dos grupos populacionais, sendo mais acentuada em população carenciada. A sua prevalência tem tendência a aumentar também com a idade., atingindo 6% dos indivíduos com idade > 70 anos. [6]

A noção de deficiência de vitaminas B com as suas manifestações psiquiátricas e neurológicas, foi alvo ao longo dos últimos anos de discussões controversas e de vários estudos.

Portanto este trabalho tem como objetivo realizar uma revisão da literatura sobre a vitamina B₁₂ (cobalamina), a homocisteína e o folato, e os seus papéis na patogénese da demência no idoso.

MATERIAIS E MÉTODOS

O levantamento bibliográfico foi realizado na base de dados *Pubmed* e no *Google Acadêmico*, em Setembro de 2014, Para a pesquisa foram utilizadas as palavras-chaves: “demência”; “vitamina B₁₂”; “homocisteína”, “folato”, “deficiência”, “idosos”, “declínio cognitivo”,

Pesquisaram-se artigos de língua inglesa, portuguesa, francesa e espanhola gratuitos. Foram classificados em diferentes categorias: (1) informação geral, (2) evidência bioquímica como a deficiência de vitamina B ou aumento de homocisteína são fatores de risco para o desenvolvimento de demência, (3) associações entre hipovitaminose B ou hiperhomocisteinemia e alterações cognitivas. Os ensaios incluídos tinham que preencher certos critérios, como serem realizados com humanos; de ambos sexos e abrangendo a faixa etária de 60 anos ou mais, sem restrição temporal. Para facilitar a análise dos dados, organizaram-se as informações quanto à autoria, ano da publicação, objetivos, delineamento da pesquisa, características amostrais, principais resultados e conclusões do estudo.

Identificaram-se 35 estudos que avaliaram a relação entre os níveis de vitamina B12 ou seus biomarcadores e a cognição.

REVISÃO SOBRE A VITAMINA B₁₂ (COBALAMINA) E O ÁCIDO FÓLICO

Metabolismo da vitamina B₁₂ (cobalamina) e do folato

O ácido fólico e a vitamina B₁₂ são micronutrientes essenciais para a saúde humana, e têm um papel fundamental na função do sistema nervoso central (SNC) em todas as idades, sendo a sua deficiência relacionada com diversas patologias, não somente com a anemia macrocítica, mas também com a neuropatia periférica, degeneração subaguda combinada e doenças cardiovasculares [7]. O metabolismo do folato e da vitamina B₁₂ está intimamente correlacionado. Ambos são necessários para a metilação da homocisteína em metionina, essencial para a síntese de nucleotídeos e para processos de metilação genômicos e não-genômicos. O ácido fólico e a vitamina B₁₂ podem também promover a prevenção de alterações do SNC, do humor e demências (incluindo a doença de Alzheimer e a demência vascular) em idosos [8].

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 [9]. As principais fontes alimentares são carnes, leite ou produtos lácteos e ovos. No estômago, a vitamina B₁₂ forma um complexo com o fator intrínseco, este alcança o íleo distal, liga-se aos recetores na superfície das células epiteliais da mucosa, aí a vitamina B₁₂ é introduzida nas células intestinais e, então, passa para a corrente sanguínea. No sangue, ocorre a ligação à proteína denominada transcobalamina II, que transporta a vitamina para os tecidos e células [7, 10].

A homocisteína é um aminoácido derivado da ingestão de metionina, a qual é encontrada em queijos, ovos, peixe, carne e aves. É tóxica aos neurónios e vasos sanguíneos e pode induzir alterações no DNA, stresse oxidativo e apoptose [11, 12]. Os intermediários do metabolismo da metionina-homocisteína são S-adenosilmetionina e S-adenosil-homocisteína. O processo metabólico produz grupos metil necessários para a síntese de catecolaminas e do DNA, sendo finalizado pela re-metilação da homocisteína, formando novamente metionina, com o uso da vitamina B₁₂ e do folato como cofatores [13]. A eliminação da homocisteína ocorre pela transformação em cisteína e em glutatona, um importante antioxidante, requerendo vitaminas B₆ e B₁₂ [14].

A conversão do 5-metil-tetrahidrofolato para tetrahidrofolato gera os grupamentos metílicos necessários para conversão da homocisteína em metionina (ver Figura 1). A vitamina B₁₂ atua como cofator para a síntese de metionina. Quando sua concentração está baixa, ocorre aprisionamento do folato metilado, destinado à síntese de DNA no ciclo da metionina (hipótese do aprisionamento do folato) [15, 16].

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

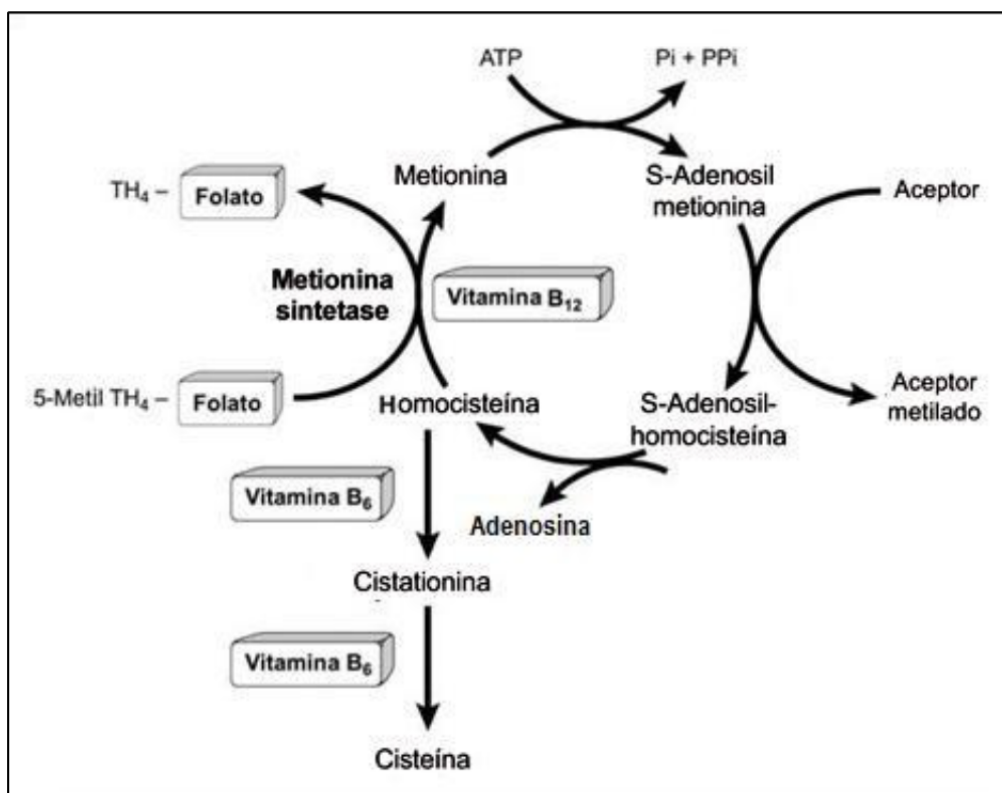


Figura 1: Metabolismo da Homocisteína (Fonte: adaptado de Troyer, 2007)

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 [14].

Uma vez que a homocisteína é um marcador sensível para a deficiência de vitamina B₁₂, sua elevação pode ser um marcador de um processo patológico, assim como a própria causa da patologia [14].

Prevalência

Os níveis séricos de homocisteína são maiores nos homens e nos idosos [17]. Níveis aumentados de homocisteína foram correlacionados com a idade e inversamente correlacionados com os de ácido fólico e vitaminas B₆, B₁₂ [18]. 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 cistacionina B-sintase [19]. No *Framingham Heart Study*, que contou com 1160 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 e 44 anos, 13% das amostras tinham níveis elevados de homocisteína plasmática total, definida como uma concentração $> 10,0$ mmol/litro [20]. 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 estrogénios [19].

Além da idade avançada e da prevalência no sexo masculino, a hiperhomocisteinemia tem sido associada ao aumento da creatinina sérica e a menor pontuação no teste de avaliação cognitiva *Mini Mental State Examination* (MMSE) [17].

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 [16, 21]. Este fato deve-se à atrofia gástrica caracterizada pela incapacidade de libertar a cobalamina dos alimentos ou à deficiência de transportadores intestinais [16, 22].

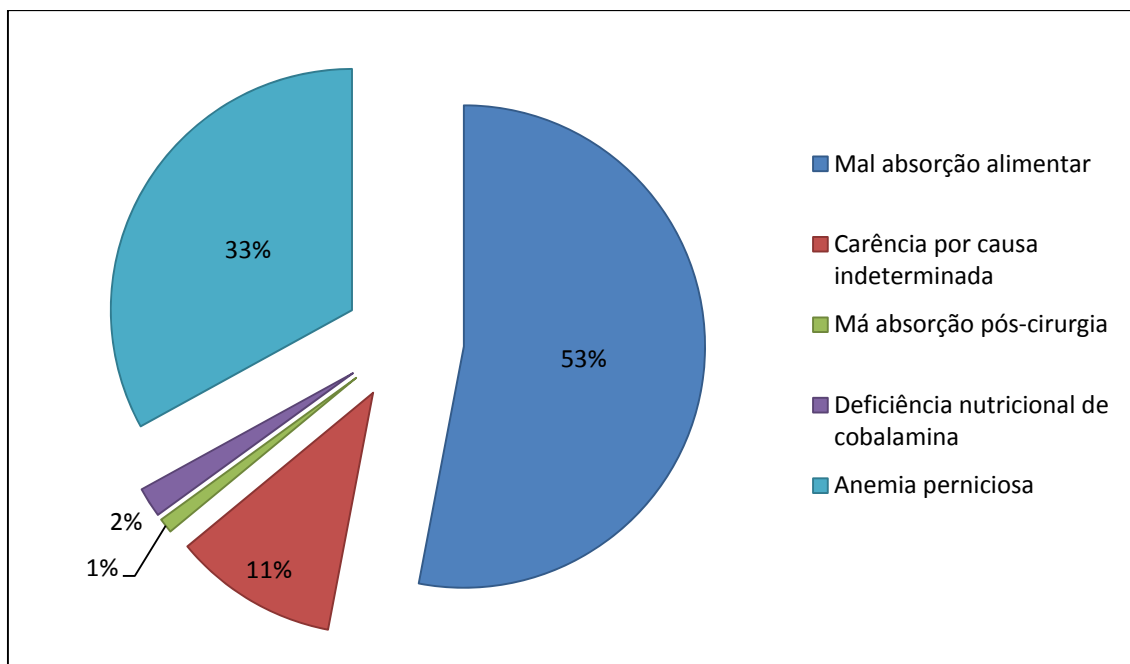


Figura 2: Causas de deficiência de Cobalamina em idosos [23]:

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 [24]. Estima-se que a prevalência da carência de cobalamina na população idosa varie entre 5-25% [16].

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 [9, 23].

Existem medicamentos, condições sistêmicas e fatores comportamentais que também interferem no metabolismo da vitamina B₁₂, da homocisteína e do ácido fólico. Conforme os 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, doença renal e fatores comportamentais como tabagismo, alcoolismo e hábito de ingerir café contribuem para o aumento da homocisteína plasmática [9, 25].

Alguns estudos encontraram níveis elevados de homocisteína na doença de Alzheimer [26, 27] e no comprometimento cognitivo [28].

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 [29, 30]. Imagens de ressonância magnética na deficiência de B₁₂ podem algumas vezes mostrar uma desmielinização disseminada, similar à encontrada na esclerose múltipla [31].

Imagina-se que um defeito na metilação na homocisteína possa ter um papel fundamental no estabelecimento das patologias associadas à deficiência do complexo B [32].

Associado a este fato, a hiperhomocisteinemia é um fator independente de risco cardiovascular, associado à microangiopatia cerebral [33], 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 recetores da N-metil-D-aspartato podendo prejudicar as funções cognitivas através de mecanismos citotóxicos [34].

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 [35].

Tabela 1: Sinais da carência de Vitamina B12 [35]:

HEMATOLÓGICOS	NEUROLÓGICOS	MENTAIS
<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▪ 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">▪ Paranoia▪ Alucinações visuais e auditivas➤ Deficiência cognitiva<ul style="list-style-type: none">▪ Cansaço▪ Confusão▪ Desorientação▪ Deficit de memória▪ Demência

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 [9, 23, 36-38].

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 anemia é rápida [9].

Já as manifestações bucais da deficiência de B₁₂ podem consistir em úlceras aftosas que, embora sejam frequentes nesses pacientes, também podem estar associadas a fatores imunológicos, trauma local, stresse, níveis hormonais, história familiar, hipersensibilidade a alimentos e infecções [39].

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 ruturas 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 [40].

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 “*gold-standard*” para diagnósticos dessa carência, especialmente para a população idosa [23].

O diagnóstico da deficiência de vitamina B₁₂ pode ser feito a partir dos seus valores séricos, bem como dos níveis de homocisteína e de ácido metilmalónico, dois componentes da via metabólica da cobalamina. Altos níveis de homocisteína também podem ser causados por deficiência de folato e vitamina B₆. Segundo Andrés [23], os indicadores séricos de deficiência de vitamina B₁₂ são: (1) 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 metilmalónico acima de 0,4 μmol/L na ausência de doença renal ou deficiência de folato e vitamina B₆ [9]

Carmel e colaboradores [41] pesquisaram as características demográficas de idosos norte-americanos negros (nascidos nos Estados Unidos ou Caraíba), latinos (nascidos nos Estados Unidos, México ou América central), brancos (com descendência europeia) 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 de ácido metilmalónico 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 metilmalónico foram verificadas em 97 (16,6%) de 583 indivíduos [41].

As deficiências de folato e cobalamina geralmente são detetadas por anormalidades hematológicas, como a anemia macrocítica megaloblástica ou a hipersegmentação de neutrófilos [9]. Assim, Thompson e colaboradores avaliaram a

sensibilidade e 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 95fl teve sensibilidade de 62% e o RDW maior que 15 teve 54% de sensibilidade para detetar deficiência de vitamina B₁₂ [42].

Tratamento

O tratamento clássico para a deficiência de cobalamina, particularmente nos casos onde a causa não é por carência dietética, é administração parenteral – usualmente com injeções intramusculares- da vitamina, mais comumente na forma de cianocobalamina e, mais raramente, como hidroxicianocobalamina [23].

O tratamento envolve a administração de 1.000 *ug* de cianocobalamina/dia durante 1 semana, seguido por 1.000ug/semana durante 1 mês e depois 1.000ug/mês, pelo resto da vida do paciente [23].

A reposição parenteral da B₁₂ promove, em alguns pacientes, significativa melhoria das condições mentais [9].

As vias alternativas para administração de cobalamina que têm sido usadas são oral [36, 37] e nasal [43].

RESULTADOS

Resumo dos estudos incluídos:

Os estudos foram de dez países englobando áreas da América do Norte (11), Europa (16), o Reino Unido (3), Ásia (4) e Israel (1), e avaliado um total de 14 325 indivíduos. A idade da população variou de 47 a 101 anos, com amostra de tamanho médio de 409 anos, seguido por 5,4 anos em média.

Os níveis de vitamina B₁₂ foram determinados predominantemente pelas concentrações de vitamina B₁₂ séricas isoladas (em trinta e um estudos). No entanto, quatro estudos utilizaram o doseamento de ácido metilmalónico (AMM) [44, 45] e/ou de holotranscobolamina (holoTC) [44, 46, 47], e um estudo [45] utilizou o AMM em combinação com os níveis sérico de vitamina B₁₂. A maioria dos estudos utilizaram múltiplos parâmetros de reajustes para avaliar a associação entre as concentrações séricas de vitamina B₁₂ e cognição, havendo três estudos que aplicaram intervalos entre 110-251 pmol/l [48-50]. Além disso, sete estudos não realizaram ajustes de dados para os resultados obtidos [48, 51-56].

Declínio cognitivo foi avaliado em vinte e sete estudos [44, 45, 53, 55, 57-69], o desenvolvimento de demência ou doença de Alzheimer foi determinado em treze estudos [27, 46-52, 58, 70-73] e cinco estudos avaliaram a deterioração cognitiva em indivíduos com diagnóstico de demência ou doença de Alzheimer [54, 56, 74-76]. Além disso, cinco estudos relatam dois resultados, um de demência e outro de doença de Alzheimer [27, 47-50].

Avaliação da qualidade e dos resultados

Na avaliação da qualidade, descobriu-se que vinte e um estudos foram de qualidade positiva, dez eram neutros e quatro foram negativos. Dos vinte e um estudos positivos com um baixo risco de viés, sete estudos encontraram associação positiva entre o status da vitamina B₁₂ e declínio cognitivo [44, 45, 60, 65], demência [47, 49] ou doença de Alzheimer [46, 47, 49] e catorze estudos não encontraram essa associação [27, 50, 52, 57, 59, 61-64, 68, 70, 71, 74, 77]. Além disso, dezanove estudos [27, 44, 45, 49, 50, 52, 57, 59-65, 68, 70, 71, 74, 77] dos vinte e um estudos de qualidade positiva, utilizaram níveis séricos de vitamina B₁₂, havendo três estudos que encontraram associação com declínio cognitivo [45, 60, 65]. Os quatro estudos que usaram como marcadores a holoTC e/ou o AMM foram de qualidade positiva, e todos mostraram a existência de uma associação significativa com declínio cognitivo, demência ou doença de Alzheimer [44-47].

A avaliação neuropsicológica foi realizada utilizando instrumentos normalizados. O diagnóstico de demência e de doença de Alzheimer foi definido pelo *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (3^a e 4^a edição). Os estudos que avaliaram o declínio cognitivo utilizaram uma variedade de testes neuropsicológicos ou testes individuais, isoladamente ou em combinação, e incluíram o *Mini-Mental State Examination* (MMSE), o *Boston Naming Test*, the *Wechsler Adult Intelligence Scale*, o *Stroop Colour Word Test* e o *Wechsler Memory Scale*.

Declínio cognitivo e níveis de vitamina B₁₂ em pacientes sem demência

A associação entre declínio cognitivo e o valor vitamina B₁₂ em indivíduos sem demência foi avaliada em seis estudos. (tabela 2). Haan e colaboradores [58] concluíram

que a vitamina B₁₂ associa-se a uma taxa de risco elevada para o desenvolvimento de demência ou comprometimento cognitivo. Interações entre vitamina B₁₂ e a homocisteína total (tHcy) foram também encontradas, visto que a vitamina b12 modifica a associação entre tHcy e o desenvolvimento de demência ou alterações cognitivas. Para aqueles incluídos no primeiro tercil de níveis séricos de vitamina B₁₂ (<340 pg/ml), as taxas de demência ou disfunção cognitiva associada com tHcy foram maiores, enquanto que para aqueles no terceiro tercil de níveis de vitamina B₁₂ (> 48 pg/ml), as taxas foram menores em comparação com o segundo tercil [58]. Elias e colaboradores [60] encontraram uma pequena associação significativa entre os níveis de vitamina B₁₂ no soro e o *Wechsler Memory Scale*. Por outro lado, quatro estudos mostraram não haver associação entre os níveis séricos de vitamina B₁₂ e o declínio cognitivo, após um seguimento médio de 5,1 anos [57, 59, 61, 62].

Tabela 2: Associação entre os níveis de vitamina B₁₂ e o declínio cognitivo em indivíduos sem demência

Estudo	População, Idade média, % de gênero masculino	Follow-up em anos	Crítérios de exclusão	Ajustes realizados	Resultados	Conclusão
Kim [57], 2008 Coreia do sul	N: 607 43% 71.9 Anos	2.4 Anos	Demência	Idade, sexo, habilitações acadêmicas	Sem associação entre alterações de score no MMSE-K com o quantil mais alto de nível de vitamina B ₁₂	Sem relação
Haan [58], 2007 EUA	N: 1405 42% 60-101 Anos	4.5 Anos	Demência, deterioração cognitiva em indivíduos com demência, EAM	Idade, habilitações acadêmicas, tHcy,	Os níveis de vitamina B ₁₂ modificam a associação positiva entre níveis de tHcy e risco de demência. Incidência de demência é maior quando há baixa tHcy com vitamina B ₁₂ elevada, e quando há elevada tHcy com vitamina B ₁₂ baixa	Aumento do risco de demência. Interação entre os níveis de tHcy e os de vitamina B ₁₂
Kado [59], 2005 EUA	N: 370 42% 74,3 Anos	7 Anos	Sem informação	Idade, sexo, habilitações acadêmicas, função cognitiva e capacidade física de base, tabagismo, vitamina B6, tHcy	Sem associação entre os níveis de vitamina B ₁₂ e resultados de 5 testes de avaliação cognitiva (teste de confrontação de nomeação, copia de figura geométrica,...) Reavaliação em 2011: sem interação entre níveis baixos de vitamina B ₁₂ com estado de apoE4 para predição do declínio cognitivo.	Sem relação
Elias [60], 2005 EUA	N: 705 49% 60-82 Anos	7.6 Anos	Enfarte, demência, tHcy>90 µmol/L	Idade, sexo, habilitações acadêmicas, níveis de B6 e folatos	Vitamina B ₁₂ sérica significativamente associada a uma melhoria global dos resultados (reprodução	Sim, existe risco

				plasmáticos, Fatores de risco DCV e renais, apoE4, tabagismo, álcool, café	visual, memória lógica)	
Teunissen [61], 2003 Holanda	N: 92 59% 57 Anos	6 Anos	DCV, enfartes, demência, doença de Parkinson, epilepsia, incapacidade mental, uso de drogas psicotrópicas	Idade, sexo, habilitações acadêmicas	Sem associação entre níveis iniciais de vitamina B ₁₂ e testes cognitivos	Sem relação
McCaddon [62], 2001 UK	N: 32 31% 74 Anos	5 Anos	Demência, MMSE <25, anemia perniciosa, cirurgia gástrica, doença hepatorenal, neoplasia, mal absorção, vegetariano, medicação que possa afetar tHcy	Idade, HTA, tabagismo, habilitações acadêmicas, folatos, tHcy, creatinina.	Nenhuma associação entre vitamina B ₁₂ no soro e MMSE.	Sem relação

EAM: enfarte agudo do miocárdio; DCV: doença cardiovasculares; HTA: hipertensão arterial; MMSE-K: *Mini Mental State Examination* – Coreano; tHcy: homocisteína total;

Declínio cognitivo e níveis de vitamina B₁₂ em indivíduos com alterações cognitivas inespecíficas

A associação de declínio cognitivo em indivíduos com normal ou inespecífica cognição foi avaliada em onze estudos utilizando vários testes de avaliação cognitiva. Desses onze estudos, quatro encontraram uma associação entre níveis de vitamina B₁₂ e pelo menos um teste de cognição (tabela 3). Tucker e colaboradores [65] estudaram indivíduos do sexo masculino durante três anos, e encontraram uma associação positiva entre vitamina B₁₂ sérica e a construção práxis (instrumento de avaliação neuropsicológico), mas sem associação com outros testes cognitivos. Além disso, dois estudos seguiram indivíduos durante 6 anos, um deles foi o autor Nurk e colaboradores [67], encontraram um maior risco de déficit de memória nos indivíduos que apresentavam um baixo nível de vitamina B₁₂ inicialmente, e Tangney e colaboradores [45] encontraram uma associação entre os níveis elevados de vitamina B₁₂ com o declínio mais rápido de memória, e um rápido declínio de memória com níveis elevados de AMM. Clarke e colaboradores [44] seguiram 472 indivíduos durante 10 anos e não relataram nenhuma associação entre o declínio cognitivo (Teste MMSE) e as concentrações de vitamina B₁₂ séricas, mas encontraram que o dobro dos níveis de holoTC ou de AMM está associado a um declínio cognitivo mais lento e mais rápido respectivamente. Além disso, sete estudos [53, 55, 63, 64, 66, 68, 69] não encontraram associação entre níveis séricos de vitamina B₁₂ e resultados cognitivos avaliados isoladamente ou em combinação com outros estudos ou no MMSE após um seguimento que variou entre 2,3 e 6,0 anos.

Desenvolvimento de demência em indivíduos sem demência inicialmente

Outros oito estudos avaliaram o desenvolvimento de demência em indivíduos previamente sem antecedentes de demência (tabela 4). Destes, três estudos encontraram uma associação entre os níveis séricos de vitamina B₁₂ ou de holoTC e o desenvolvimento de demência [47, 49, 58], e cinco não encontram essa associação [27, 48, 50, 70, 71]. O desenvolvimento da doença de Alzheimer foi avaliado em oito estudos, tendo três encontrado uma associação com a holoTc ou os níveis de vitamina B₁₂ isolados ou em combinação com níveis baixos séricos de ácido fólico [46, 47, 49] (tabela 5). Wang e colaboradores [49] não detetaram nenhuma associação entre os níveis séricos de vitamina B₁₂ ou ácido fólico e a doença de Alzheimer isolada, mas encontraram um risco duplicado de desenvolver a doença de Alzheimer quando existe níveis séricos de vitamina B₁₂ <150pmol/l ou concentrações de folatos <10nmol/l, em comparação com níveis séricos normais. Kivipelto e colaboradores [47] constataram que indivíduos com concentrações de holoTC no terceiro quartil em comparação aos do primeiro quartil, apresentam um risco relativamente reduzido de desenvolver doença de Alzheimer após quase sete anos. No entanto, nenhuma diferença foi encontrada entre o primeiro e quarto quartil.

Declínio cognitivo em indivíduos com demência

A associação entre os níveis de vitamina B₁₂ iniciais e a deterioração cognitiva foi alvo de investigação em cinco estudos selecionados. As amostras desses cinco estudos tinham a particularidade de englobar indivíduos com o diagnóstico feito de demência (tabela 6). Não foi possível encontrar uma associação entre os níveis de vitamina B₁₂ e a cognição [54, 56, 74-76].

Tabela 3: Relação entre os níveis de vitamina B₁₂ e o declínio cognitivo em população com nível de cognição não especificado.

Estudo	População, % de gênero masculino; Idade média,	Follow-up em anos	Crítérios de exclusão	Ajustes realizados	Resultados	Conclusão
van den Kommer [63], 2010 Holanda	N: 895 48,5% 75.4Anos	6 Anos	Indivíduos com altos níveis de vitamina B ₁₂ ou Creatinina	Idade, sexo, habilitações académicas, tempo, Creatinina, HDL, HTA,	Existe uma a associação entre os níveis de tHcy e a cognição (linguagem, pensamento) mas que foi perturbada pelos níveis de vitamina B ₁₂ , mas sem relação com o MMSE. Sem resultados entre os níveis de vitamina B ₁₂ isolados e a cognição.	Sem relação
Tangney [45], 2009 EUA	N: 498 61% 80 Anos	6 Anos	Sem indicação	Idade, sexo, habilitações académicas, raça, atividade cognitiva, Cr, tabagismo, álcool, dieta, vitamina E, vitamina C, quantidade de refeições de peixe/semana	Altos níveis de vitamina B ₁₂ estão associados a um declínio ligeiro e altos níveis de AMM estão associados a um declínio rápido da cognição.	Sim, existe relação
Clarke [44], 2007 UK	N: 472 38% 71,9Anos	10 Anos	Vitamina b12 no soro >1000pmol/l ou holoTC >400pmol/l ou injeção de vitamina b12 ou suplementos	Sexo, habilitações académicas, hábitos tabágicos, antecedentes de doença vascular, MMSE, Psist, apoE, tHcy, holoTc, AMM	Usando os resultados do MMSE, o dobro de holoTC (50 para 100 pmol/l) está associado a um declínio cognitivo de 30%. Um aumento de AMM de 0,25 para 0,5 µmol/l está associado a um declínio cognitivo mais rápido de mais 50%. Sem associação com valores de vitamina B ₁₂	Sim, existe relação
Kang [64], 2006 EUA	N: 389 0% >70 Anos	4 Anos	Antecedentes de enfarte, CHD, neoplasia da mama ou cólon	Idade, habilitações académicas, DM, PA, colesterol total, terapia hormonal, idade da menopausa, saúde mental, hábitos tabágicos, AD, AAS, álcool, suplementos de vitamina E, atividade física	Sem associação entre valores de vitamina B ₁₂ e diferenças no declínio cognitivo	Sem relação
Tucker [65], 2005 EUA	N: 284 100%	3 Anos	Sujeitos que faltam a 2 ciclos de testes cognitivos	Idade, habilitações académicas, glicemias,	Associação positiva entre valores vitamina B ₁₂ no soro e construção espacial, sem	Sim, existe relação

Mooijaart [66], 2005 Holanda	67 Anos			tabagismo, álcool, Creatinina, Psist, DM, ácido fólico,	associação com a linguagem, memória de trabalho, memória a curto prazo ou MMSE.	
	N: 341 34% 85 Anos	4 Anos	< 85 Anos	Sexo, habilitações acadêmicas, depressão, suplementos de B12 e ácido fólico, tHcy, concentração de folato	Sem associação entre os valores de vitamina B ₁₂ e agravamento dos resultados dos testes cognitivos	Sem relação
	N: 235 45% 65-67 Anos	6 Anos	tHcy > 40 μmol/l no início do estudo	Sexo, genótipo apoE, habilitações acadêmicas, doenças cardiovasculares, HTA, depressão	Tendência a um risco maior de déficit de memória, quando existem valores baixos de vitamina B ₁₂	Sim, existe relação
	N: 104 28% 72.9 Anos	2,3 Anos	Suplementos de vitamina b12, cirurgia gástrica/ileal, Cr > 130 μmol/l, Doença neurológica MMSE < 24, depressão, institucionalizado.	Idade, sexo, habilitações acadêmicas, tempo entre cada visita, DM, HTA	Em indivíduos que apresentavam inicialmente um nível elevado de 40% de tHcy, a tHcy está associado com o declínio do <i>score Stroop</i> . Sem haver relação com vitamina B ₁₂ .	Sem relação
	N: 1241 41,4% 67 Anos	4 Anos	Sem indicações	Idade, sexo, habilitações acadêmicas, glicemias, álcool, tabaco, HTA, aumento do colesterol, doença vascular, cº de folato	Sem associação entre vitamina B ₁₂ e tHcy ou declínio cognitivo, verificado por vários testes de avaliação neuropsicológica e MMSE.	Sem relação
	N: 189 49% 75-80 Anos	5 Anos	Incapacidade de responder a perguntas sozinhos, sem fluência linguística	Sem ajustes	Sem associação entre vitamina B ₁₂ e MMSE	Sem relação
	N: 137 49% 71,7 Anos	6 Anos	DM, HTA mal controlada	Sem ajustes	Sem associação entre valores de base de vitamina B ₁₂ e resultados dos testes cognitivos.	Sem relação

Cr: Creatinina; HTA: hipertensão arterial; tHcy: homocisteína total; DM: *Diabetes Mellitus*; MMSE: *Mini Mental State Examination*; Psist: pressão sistólica; PA: pressão arterial; AD: antidepressivos;

Tabela 4: Associação entre os níveis de vitamina B12 e o desenvolvimento de demência em indivíduos sem demência inicialmente:

Estudo	População, Idade média, % de gênero masculino	Follow-up em anos	Crítérios de exclusão	Ajustes realizados	Resultados	Conclusão
Zylberstein [70], 2011 Suécia	N: 1368 0% 47 Anos	35 Anos	Não reportado	Idade, Cr, habilitações acadêmicas, glicemia, colesterol total, PA, tabagismo	Vitamina B ₁₂ sem associação com demência	Sem relação
Kivipelto [47], 2009 Suécia	N: 83 25% 81,0 Anos	6,7 Anos	Demência, idade <75 anos, uso de suplementos	Idade, sexo, incapacidades, habilitações acadêmicas, depressão, álcool, PA, fatores de risco vasculares, Cr, alterações no peso.	Indivíduos com holoTC entre o 1º e 3º quartil têm um risco reduzido de demência. Sem risco reduzido indivíduos no 4º quartil.	Sim, há redução do risco de demência no 3º quartil de holoTC
Kim [57], 2008 Coreia do Sul	N: 518 43% 71,9 Anos	2,4 Anos	Demência	Idade, sexo, habilitações acadêmicas, incapacidades, depressão, álcool, atividade física, fatores de risco vasculares, Cr, alterações de peso, suplementação de vitaminas	Sem associação com a deterioração do MMSE-K e os valores de vitamina B ₁₂ no soro iniciais. Sujeitos que desenvolveram demência, apresentam ligeiro aumento de vitamina B ₁₂ após os 2,4 anos de follow-up	Sem relação
Haan [58], 2007 EUA	N:1332 42% 60-101 Anos	4,5 Anos	Demência, deterioração cognitiva	Idade, habilitações acadêmicas, tHcy, exclusão dos indivíduos que sofreram EAM durante o seguimento	Os níveis de vitamina B ₁₂ modificam a associação positiva entre níveis de tHcy e risco de demência. Incidência de demência é maior quando há baixa tHcy com vitamina B ₁₂ elevada, e quando há elevada tHcy com vitamina B ₁₂ baixa	Aumento do risco de demência. Interação entre os níveis de tHcy e os de vitamina B ₁₂

Ravalgia [50], 2005 Itália	N: 816 47% 73.6 Anos	3,8 Anos	Demência	Idade, Sexo, habilitações acadêmicas, genótipo apoE, fatores de risco vasculares, tHcy, níveis de folato	Sem diferença na incidência de demência nos indivíduos com vitamina B ₁₂ <251 vs >251 pmol/l	Sem relação
Seshadri [27], 2002 Suécia	N: 932 38.9% 76 Anis	8 Anos	Demência	Idade, sexo, genótipo apoE	Sem relação	Sem relação
Wang [49], 2001 Suécia	N: 370 19% 75-101 Anos	3 Anos	Demência, indivíduos que recusaram realizar análises sanguíneas, suplementos de vitamina B ₁₂ e ácido fólico	Idade, sexo, habilitações acadêmicas.	Sem diferença no risco de demência para concentrações de vitamina B ₁₂ <150 vs > 150 pmol/l. Indivíduos com vitamina b12 <150pmol/l ou folato <10 nmol/l vs concentrações normais, apresentam um risco aumentado de demência.	Sim, existe relação com o risco de demência
Crystal [48], 1994 EUA	N: 410 Sem informação 75-85 Anos	5 Anos	Sem informação	Sem ajustes	Sem diferença na incidência de demência nos participantes com vitamina B ₁₂ <110 pmol/l vs >110pmol/l	Sem relação

MMSE: *Mini Mental State Examination*; Cr: creatinina; PA: pressão arterial; tHcy: homocisteína total; EAM: enfarte agudo do miocárdio

Tabela 5: Relação entre os níveis de vitamina B12 e o desenvolvimento de doença de Alzheimer (AD) em indivíduos sem demência:

Estudo	População, Idade média, % de gênero masculino	Follow-up em anos	CrITÉrios de exclusão	Ajustes realizados	Resultados	Conclusão
Hooshmand [46], Suécia	N: 271 38% 70,7 Anos	7,4 Anos	Demência	Idade, sexo, glicémias, habilitações acadêmicas, apoE4, tHcy, PA, folatos, MMSE, tabagismo, enfarte, doença renal,	Indivíduos com baixos níveis de holoTC apresentam maior risco de desenvolver DA	Sim, existe risco associado
Crystal [48], 1994, EUA	N: 410 Sem informação 75-85 Anos	5 Anos	Sem informação	Sem ajustes	Sem maior risco de desenvolver DA em doentes com baixos ou altos níveis de vitamina B ₁₂	Sem relação
Wang [49], 2001, Suécia	N: 370 19% 75-101 Anos	3 Anos	Sem informação	Idade, sexo, habilitações acadêmicas	Sem risco aumentado de DA quando níveis de vitamina B ₁₂ > 150pmol/l. Dobro de risco de DA quando vitamina B ₁₂ < 150 ou ácido fólico < 10nmol/l	Sim, sem relação da vitamina B ₁₂ isolada, mas o risco é maior quando existe níveis baixos de vitamina B ₁₂ associados a níveis baixos de ácido fólico
Luchsinger [72], 2004 EUA	N: 679 28,3% 76,2 Anos	4,7 Anos	Idade <65 anos, demência	Etnia, apoE, tabagismo, DM, HTA, Cr	Sem associação entre níveis de vitamina B ₁₂ e risco de DA	Sem relação
Ravaglia [50], 2005, Itália	N: 816 48,6% 73,6 Anos	3,8 Anos	Demência	Idade, Sexo, habilitações acadêmicas, genótipo apoE, fatores de risco vasculares, tHcy, níveis de folato	Sem diferença na incidência de DA associada a níveis baixos ou altos de vitamina B ₁₂	Sem relação
Kivipelto [47], 2009, Suécia	N: 61 25% 81,0 Anos	6,7 Anos	Demência, idade < 75 anos, suplementos de vitamina B ₁₂ ou ácido fólico	Idade, sexo, habilitações acadêmicas, glicemias, Alb, Hb, Cr, MMSE, holoTC, tHcy, nível sérico de folatos	Indivíduos com níveis de holoTC incluídos no terceiro quartil têm menor risco de DA que do quarto quartil..	Sim, há redução do risco de DA para o terceiro quartil de holoTC

Seshadri [27], 2002, EUA	N: 932 38,9% 76 Anos	8 Anos	Demência,	Idade, sexo, apoE	Níveis de Vitamina b12 são independentes do risco de DA	Sem relação
Bowirrat [73], 2002 Israel	N: 158 Sem informação	20 Meses	Sem informação	Idade de nascimento, sexo	Níveis de vitamina B ₁₂ são independentes do risco de DA	Sem relação

DA: doença de Alzheimer; Alb: albumina; Cr: creatinina; Hb: hemoglobina; DM: *Diabetes Mellitus*; tHcy: homocisteína total; HTA: hipertensão arterial; PA: pressão arterial; MMSE: *Mini Mental State Examination*; holoTC: holotranscobolamina;

Tabela 6: Relação entre os níveis de vitamina b12 e o declínio cognitivo em indivíduos com demência ou doença de Alzheimer.

Estudo	População, Idade média, % de gênero masculino	Follow-up em anos	Critérios de exclusão	Ajustes realizados	Resultados	Conclusão
Oulhaj [74], 2010 UK	N: 97 44% 71,9 Anos	4 Anos	Indivíduos com resultados < 35 no <i>Cambridge Cognitive Assessment</i>	Idade, enfartes, habilitações acadêmicas, tHcy.	Sem efeito dos níveis de vitamina B ₁₂ sobre o declínio avaliado através do <i>Cambridge Cognitive Assessment</i>	Sem relação
Small [75], 1998 Suécia	N: 24 23% 83,5 Anos	2,5 Anos	Sem informação	Idade, sexo, habilitações acadêmicas, DA ou demência vascular	Sem efeito dos níveis de vitamina B ₁₂ sobre o declínio de memória, capacidade verbal, capacidade de orientação.	Sem relação
Small [76], 1997 Suécia	N: 27 22% 85,9 Anos	2,6 Anos	Sem informação	MMSE, diagnóstico de demência, idade, sexo, habilitações acadêmicas	Os níveis de vitamina B ₁₂ não influenciam os resultados do MMSE	Sem relação
Tu [56], 2010 Taiwan	N: 92 33% 73,8 Anos	0,5 Anos	Cr > 15mg/l, enfarte, suplementos de ácido fólico ou vitamina B ₁₂ , função hepática alterada.	Sem ajustes	Sem correlação entre o teste de rastreio de habilidade cognitiva e os níveis de vitamina B ₁₂	Sem relação
Huang [54], 2010 Taiwan	N: 133 41% 72,8 Anos	2 Anos	Cr > 15mg/l, enfarte, suplementos de ácido fólico ou vitamina B ₁₂ , função hepática alterada.	Sem ajustes	Sem diferença dos níveis de vitamina B ₁₂ com os indivíduos diagnosticados com doença de Alzheimer que apresentam um declínio no MMSE.	Sem relação

Cr: Creatinina; MMSE: *Mini Mental State Examination*; tHcy: homocisteína total;

DISCUSSÃO

Com esta revisão pode se concluir que não há provas suficientes para determinar se o nível da vitamina B₁₂ está associado ao declínio cognitivo ou a demência. A avaliação de trinta e cinco estudos de coorte ou, mais especificamente, dos vinte e um estudos de qualidade positiva, não permite validar a hipótese que sugere a existência de uma relação entre as concentrações séricas da vitamina B₁₂ como causa de deterioração cognitiva ou de demência associada. Dos vinte e um estudos de qualidade positiva, sete encontraram associações significativas entre os níveis da vitamina B₁₂ e um declínio cognitivo [44, 45, 60, 65], demência [47, 49] ou doença de Alzheimer [46, 47, 49]. Um dado interessante da revisão é que os quatro estudos que usaram os marcadores do estado de vitamina B₁₂ com maior especificidade (holoTC e AMM) mostraram resultados consistentes na existência de uma associação com o declínio cognitivo [44, 45], demência [47] e doença de Alzheimer [46, 47]. No entanto, o estudo de Kivipelto e colaboradores [47] encontrou uma relação entre a holoTC e o desenvolvimento de demência só em uma parte da amostra (no terceiro quartil).

O desenvolvimento da demência e da deterioração cognitiva geralmente ocorre ao longo de vários anos, de uma forma gradual na maioria dos casos, daí haver uma grande importância em relação à duração do seguimento da população estudada, uma vez que uma duração inadequada pode não mostrar nenhuma correlação entre o declínio cognitivo e níveis de vitamina B₁₂. A duração média dos estudos foi de 4 anos, havendo apenas sete dos trinta e cinco que avaliaram a cognição durante mais de 6 anos. A maioria dos estudos selecionou indivíduos com idade superior ou igual a 75 anos inicialmente, havendo apenas dois estudos que recrutaram indivíduos de meia-idade

para realizar um seguimento de 35 anos e de 6 anos, respetivamente; no entanto nenhum mostrou qualquer associação entre os níveis de vitamina B₁₂ sérica e o nível de cognição. Dos nove estudos que selecionaram indivíduos na sétima década de vida ou mais novos, cinco desses [51, 58, 60, 65, 67] encontraram uma correlação entre a cognição e os níveis de vitamina b12, enquanto apenas cinco [44-47, 49] num total de vinte e cinco estudos, com idade média da população selecionada compreendida na oitava década ou acima dessa, encontraram essa associação. A idade dos indivíduos selecionados para serem estudados, deve ser considerada, uma vez que os níveis de vitamina B₁₂ parecem influenciar desde a idade média o desenvolvimento da doença [5].

A fim de verificar se existe qualquer correlação, o correto diagnóstico do estado de vitamina B₁₂ deve ser feito num primeiro tempo; no entanto, não há um “*gold standard*” para a determinação dos níveis de vitamina B₁₂ e cada teste de diagnóstico tem as suas limitações. A concentração elevada de vitamina B₁₂ geralmente indica níveis suficientes, não havendo dúvidas em relação a essa parte, o problema é quando é necessário a interpretação de baixas concentrações de vitamina B₁₂. Como foi escrito anteriormente, o nível sérico de homocisteína total e de ácido metilmalónico podem ser usados para ajudar na determinação do estado de vitamina B₁₂. Uma recente revisão constatou, que a determinação isolada da concentração de vitamina B₁₂ não é fiável para o diagnóstico de uma deficiência de vitamina B₁₂ [78]. Andrès e colaboradores [23] definiram um esquema indicativo para o diagnóstico de deficiência de vitamina B₁₂: (1) 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 metilmalónico acima de 0,4 µmol/L na ausência de doença renal ou deficiência de folato e vitamina B₆. Enquanto outros estudos mostram que a determinação da forma ativa de vitamina B₁₂, holoTC e/ou

AMM, como indicadores de reserva tecidual, podem fornecer uma previsão mais precisa do estado de deficiência de vitamina B₁₂ [23, 79]. Nos trinta e cinco estudos selecionados para efetuar o diagnóstico do estado de vitamina B₁₂ foram realizados os doseamentos de vitamina B₁₂ sérica, de ácido metilmalônico, de holotranscobalamina, e dos níveis de homocisteína total. Dos trinta e dois estudos que avaliaram o nível de vitamina B₁₂ no soro, dez estudos mostraram uma relação com a cognição, enquanto os quatro estudos que usaram holoTC e/ou AMM, todos apresentaram essa associação. Dos dois estudos que avaliaram a holoTC ou a AMM para além do nível de vitamina b12 no soro [44, 45], houve apenas o estudo, realizado por Tangney e colaboradores[45], que mostrou existir uma associação com o nível de vitamina B₁₂, no entanto essa população de estudo foi suplementada com ácido fólico, avaliada com ferramentas neuropsicológicas e acompanhada durante 6 anos. Quatro estudos usaram o tHcy associado aos níveis de vitamina B₁₂, três não mostraram nenhuma relação com a cognição [63, 68, 69], havendo apenas um que mostrou a existência de uma relação positiva [58].

A presente revisão a partir de estes trinta e cinco estudos indica, que a hipótese proposta inicialmente para a existência de uma provável associação entre os níveis baixos de vitamina B₁₂ e os riscos aumentados de desenvolver demência ou deterioração cognitiva, é inconsistente. Um único estudo mostrou que tanto as concentrações baixas como as concentrações elevadas de vitamina B₁₂ podem estar associadas com um maior risco de demência ou de deterioração cognitiva. Mas esse resultado pode ter sido falsamente positivo, uma vez que os autores desse estudo não relacionaram os níveis de vitamina B₁₂ com os níveis de homocisteína [58].

Os testes de avaliação cognitiva escolhidos também necessitam de ter sensibilidade suficiente para detetar alterações na cognição quando existir níveis baixos

de vitamina B₁₂. A maioria dos estudos selecionados utilizaram testes neuropsicológicos para a detecção de um declínio cognitivo ou de demência. No entanto, nove estudos usaram unicamente o MMSE ou em combinação com outros testes cognitivos. O MMSE é um teste de rastreio válido, ao invés de um teste diagnóstico, e como tal, pode ter menor sensibilidade para detetar alterações cognitivas [80]. Em apenas um estudo, foi possível associar os níveis de vitamina B₁₂ ao MMSE, e este estudo utilizou marcadores com maior especificidade para quantificar os níveis de vitamina B₁₂, ou seja, utilizou a holoTC e o AMM [44]. A combinação do MMSE e de outros testes cognitivos foi utilizada em três estudos [65, 66, 69], havendo apenas um que encontrou uma associação positiva com as concentrações de vitamina B₁₂ [65], mas nenhum com o MMSE. A sensibilidade dos testes cognitivos para alterações dos níveis tHcy tem sido investigada [81], no entanto existe pouca informação na literatura sobre a sensibilidade dos testes cognitivos para poder ser feita a correlação com os níveis de vitamina B₁₂, e o desenvolvimento deste conhecimento é uma importante área de pesquisa. Existe também alguns estudos na literatura científica que utilizam exames imagiológicos cerebrais para avaliar a atrofia cerebral e as alterações na substância branca, que comprovaram a existência de uma associação com os níveis de vitamina B₁₂, sendo portanto um exame mais sensível que os testes cognitivos [82, 83].

As populações avaliadas nos estudos selecionados foram populações representativas de dez países, com diferentes níveis de declínio cognitivo, como também diferentes perfis de doença crónica e havendo população que foi submetida a uma suplementação de ácido fólico. Alguns estudos excluíram indivíduos com demência ou deterioração cognitiva, enquanto outros incluem todos os indivíduos sem avaliação prévia da cognição. A quantificação do nível de vitamina B₁₂ foi falsamente avaliado devido a existência de doenças [9, 25, 79], como a doença renal e a doença

hepática, e teria sido necessário realizar ajustes baseados no perfil de doenças crônicas para o correto doseamento da concentração de vitamina B₁₂.

Diversos genes têm sido implicados no desenvolvimento do declínio cognitivo e demência. O genótipo apoE4, o polimorfismo genético mais comum, duplica o risco de desenvolver a doença de Alzheimer [84]. Baixos níveis de vitamina B₁₂ foram associados a um maior risco de declínio cognitivo em portadores do genótipo apoE4 [85, 86], mas alguns autores não encontraram essa associação [69, 87]. Dos estudos selecionados, oito [27, 44, 46, 47, 50, 60, 67, 72] tiveram em conta o genótipo apoE4 para a análise de resultados, cinco deles [44, 46, 47, 60, 67] mostraram a existência de uma associação positiva entre os níveis de vitamina B₁₂ e declínio cognitivo após realização de ajustes. Devido ao impacto potencial do genótipo sobre o risco da doença, as características genéticas conhecidas devem ser controladas em qualquer tipo de análise para avaliar o papel do nível de vitamina B₁₂.

Níveis elevados de ácido fólico têm sido associados a melhorias cognitivas [5]. Em indivíduos com baixos níveis de vitamina B₁₂, as concentrações elevadas de ácido fólico estão associadas a uma maior concentração de AMM e tHcy [88] e a um maior declínio cognitivo [89]. Nos estudos selecionados, a população de sete deles foi sujeita a uma suplementação de ácido fólico, havendo quatro [45, 58, 60, 65] que revelaram uma associação negativa entre os níveis de vitamina B₁₂ e o declínio cognitivo. Este resultado é consistente com o efeito prejudicial dos altos níveis de ácido fólico, quando associados a deficiência de vitamina B₁₂, postulado na progressão da deterioração cognitiva [90].

Os estudos podem ter sido insuficientes para mostrar o efeito da vitamina B₁₂, uma vez que apenas dez estudos apresentaram amostras populacionais superiores a 500

indivíduos. Na maioria dos estudos selecionados, não foi executado ou reportado um cálculo para a estimativa ideal do número de indivíduos necessários para integrarem a amostra estudada; no entanto, muitos desses estudos concluem que essa falha a cerca da amostra ideal possa ser uma explicação para o resultado sem efeito da vitamina B₁₂ sobre o declínio cognitivo ou demência. O desvio padrão populacional para os níveis de vitamina B₁₂ e de biomarcadores pode ser alto, e qualquer efeito só é suscetível de ser visto em indivíduos com baixo nível de vitamina B₁₂, sendo esse nível de vitamina encontrado em 10-20% na população idosa [38], o que indica que o número de sujeitos estudados pode precisar de ser maior.

A revisão dos estudos selecionados não foi considerada adequada, devido à variabilidade que existiu nas amostras populacionais, nos níveis de vitamina B₁₂ e na recolha dos diferentes dados. A pesquisa nas bases de dados realizada manualmente foi um dos pontos fortes desta revisão, permitindo assim selecionar todos os estudos, principalmente aqueles interessados em tHcy, que relataram a existência de uma associação entre os níveis de vitamina B₁₂ e a cognição, como aqueles que mostram não existir nenhum efeito entre essas duas variáveis. Assim um maior número de estudos foi selecionado permitindo a redução do viés.

Recomendações:

Futuros estudos deverão visar usar o AMM e/ou a holoTC como marcadores específicos, bem como os níveis de vitamina B₁₂ e descrever totalmente esses doseamentos a fim de quantificar corretamente as reservas existentes de vitamina B₁₂. Outros pontos a considerar serão a duração adequada dos estudos, que deverá ser superior a 6 anos, e a escolha de um teste de diagnóstico cognitivo com maior sensibilidade ao invés de um teste de rastreio. Portanto será necessário maior

investigação a cerca da sensibilidade e da especificidade destes testes. Sempre que possível, deverão ser procurados estudos que incluem a avaliação e os ajustes necessários para a idade, sexo, tabagismo, atividade física, nível socioeconómico, fatores genéticos e outros fatores conhecidos para serem associados a um risco aumentado de declínio cognitivo, por exemplo, doença cardiovascular, *Diabetes Mellitus* e doença renal crónica.

CONCLUSÃO

Em resumo, estudos atuais examinados nesta revisão não mostram claramente uma relação direta entre os níveis de vitamina B₁₂ e o declínio cognitivo, mas estes estudos foram limitados por alguns fatores: a idade de recrutamento dos indivíduos, as amostras com números insuficientes, a falta de ajustes das diferentes variáveis, a duração do seguimento inferior ao adequado, e em alguns estudos, a escolha menos indicada do teste para avaliação cognitiva. Os biomarcadores do estado de vitamina B₁₂ mostraram resultados consistentes, comprovando a existência de uma associação entre os baixos níveis de vitamina B₁₂ e uma maior taxa de diagnóstico de declínio cognitivo e de demência, assim sendo, estes biomarcadores merecem uma maior investigação no futuro.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu Orientador Prof. Dr. Manuel Teixeira Marques Veríssimo pela disponibilidade e apoio dado na realização deste trabalho, estando sempre disposto a transmitir os seus conhecimentos.

À minha família, pela dedicação e apoio sempre constantes.

Ao Pedro, pela paciência e compreensão nos bons e maus momentos.

Aos meus amigos, pelo ânimo, incentivo e amizade sincera.

REFERÊNCIAS

1. United Nations, Department of Economic and Social Affairs. Population Division. (2001) World population ageing, 1650-2050. New York: United Nations. ISBN 92-1-051092-5.
2. Association, A.A.P., The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM IV).
3. Fratiglioni, L., (1999) Worldwide prevalence and incidence of dementia. *Drug Aging*. 15:365-75.
4. World Health Organization. (2008) WHO Mental Health Gap Action Programme (mhGAP). http://www.who.int/mental_health/mhgap/en/.
5. Smith, A.D., (2008) The worldwide challenge of the dementias: A role for B vitamins and homocysteine? *Food and Nutrition Bulletin*. vol. 29, no. 2 (supplement).
6. Allen, L.H., (2009) How common is vitamin B-12 deficiency? *Am J Clin Nutr*. 89(suppl):693S–6S.
7. Fabiana Henriques Goularte, Paula Engroff, Luísa Scheer Ely, Geraldo Attilio De Carli., (2013) Folic acid and vitamin B12 deficiency in elderly: a review. *Amazon Journal of Geriatric and Gerontology*.
8. Reynolds E. (2006.) Vitamin B12, folic acid, and the nervous system. *Lancet Neurol*. Nov;5(11):949-60.
9. Futterleib A, Cherubini X. (2005) Importância da vitamina B12 na avaliação clínica. *Scientia Medica*, v. 15, n. 1.
10. ALEXANDRE FUTTERLEIB, K.C., (2005) Importance of vitamin B12 screening in clinical evaluation of elderly patient. *Scientia Medica*. PUCRS, v. 15, n. 1, jan./mar.
11. Lipton SA; Kim WK; Choi YB; Kumar S; D’Emilia DM; Rayudu PV; Arnelle DR; Stamler JS (1997): Neurotoxicity associated with dual actions of homocysteine at the N-methyl-D-aspartate receptor. *Proc Natl Acad Sci* 94:5923–5928.
12. Mattson MP, Shea TB: (2003) Folate and homocysteine metabolism in neural plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neurosci* 26:137–146.

13. Smith C, Marks AD, Lieberman M. (2007) *Bioquímica médica básica de Marks*. Porto Alegre: Artmed.
14. Folstein M, Liu T, Peter I et al. (2007) Homocysteine and depression. *Am J Psychiatry* 164:861– 867.
15. Herbert V; Zalusky R. (1962) Interrelations of vitamin B12 and folic acid metabolism: folic acid clearance studies. *J Clin Invest.* 41:1263–1276.
16. Varela-Moreiras G, Murphy MM, Scott JM. (2009) Cobalamin, folic acid, and homocysteine. *Nutrition Reviews* Vol. 67(Suppl. 1):S69–S72.
17. Marengoni A, Cossi S, De Martinis M et al. (2004) Homocysteine and disability in hospitalized geriatric patients. *Metabolism* 53:1016–1020.
18. Selhub J, Jacques PF, Wilson PW et al. (1993) Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 270:2693–2698.
19. Garcia IS, Cerezo JFG, Ríos JJ et al. (2001) La homocisteína: ¿ El factor de riesgo cardiovascular del próximo milenio. *Ann Med Interna*, 18(4): 211-217.
20. Giles WH, Kittner SJ, Croft JB et al. (1999) Distribution and correlates of elevated total homocyst(e)ine: the Stroke Prevention in Young Women Study. *Ann Epidemiol* 9:307–313.
21. de Meer K; Finglas PM; Molloy A et al. (2005) Position paper: goals for folate and related vitamins in Europe and the developing world. *Eur J Clin Nutr.* 34:187–193.
22. Carmel R. (1997) Cobalamin, the stomach, and aging. *Am J Clin Nutr.* 66:750–759.
23. Andrés E, Loukili NH et al. (2009) Update of Food-Cobalamin Malabsorption and Oral Cobalamin Therapy. *The Open General and Internal Medicine Journal.* 3,4-10.
24. Clarke R. (2006) Vitamin B12, folic acid, and the prevention of dementia. *N Engl J Med.* 29;354(26):2764-72.
25. Stanger O, Herrmann W, Pietrzik K et al. (2003) 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 ab Med.* 41(11):1392-403.

26. Robert Clarke, M.A.D.S., DPhil; Kim A. Jobst, DM; Helga Refsum, MD; Lesley Sutton, BSc; Per M. Ueland, MD, (1998) Folate, Vitamin B12, and Serum Total Homocysteine. Levels in Confirmed Alzheimer Disease. *Arch Neurol.* 1998;55:1449-1455.
27. Seshadri S, Beiser A, Selhub J et al. (2002) Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 346:476–483.
28. Wright CB; Lee HS, Paik MC; Stabler SP; Allen RH; Sacco RL (2004.): Total homocysteine and cognition in a tri-ethnic cohort: the Northern Manhattan Study. *Neurology* 63:254–260.
29. Woltman HW. (1918) Brain changes associated with pernicious anemia. *Arch Intern Med* 21:791– 843.
30. Adams RD, Kubik CS. (1944) Subacute degeneration of the brain in pernicious anemia. *N Engl J Med* 231:1–9.
31. Haan J, Haupts M, Uhlenbrock D. (1987) 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.
32. Bottiglieri T. (1996.) Folate, vitamin B12, and neuropsychiatric disorders. *Nutr Rev* 54:382–390.
33. Fassbender K, Mielke O, Bertsch T et al. (1999) Homocysteine in cerebral macroangiography and microangiopathy (letter). *Lancet* 353:1586–1587,.
34. Parnetti L, Bottiglieri T, Lowenthal D. (1997.) Role of homocysteine in age-related vascular and non-vascular diseases. *Aging (Milano)* 9:241–257
35. Pompermayer L. et al. - INVOLVEMENT OF B12 VITAMIN, HOMOCYSTEIN AND FOLATE IN THE DEVELOPMENT OF DEMENTIA.
36. Andrès E, Kaltenbach G, Noblet-Dick M, et al. (2006) Hematological response to short-term oral cyanocobalamin therapy for the treatment of cobalamin deficiencies in elderly patients. *J Nutr Health Aging.* 10: 3-6.
37. Andrès E, Affenberger S, Vinzio S et al. (2005) Food-cobalamin malabsorption in elderly patients: clinical manifestations and treatment. *Am J Med* 118: 1154-59.
38. Carmel R; Sarrai M. (2006) Diagnosis and management of clinical and subclinical cobalamin deficiency: advances and controversies. *Curr Hematol Rep* 5: 23-33.

39. Weusten BLMA, Wiel A. (1998) Aphthous ulcers and vitamin B12 deficiency. *Neth J Med.* 53:172- 5.
40. Fenech M. (2001) The role of folic acid and Vitamin B12 in genomic stability of human cells. *Mutat Res.* 457:57-67.
41. Carmel R, Green R, Jacobsen DW et al (1999). Serum cobalamin, homocysteine, and methylmalonic acid concentrations in a multiethnic elderly population: ethnic and sex differences in cobalamin and metabolite abnormalities1-3. *Am J Clin Nutr.* 70:904-10.
42. Thompson WG, Cassino C, Babitz L et al (1989). Hypersegmented neutrophils and vitamin B12 deficiency. Hypersegmentation in B12 deficiency. *Acta Haematol.* 81:186-91.
43. van Asselt DZ; Merkus FW; Russel FG; Hoefnagels WH (1998). Nasal absorption of hydroxocobalamin in healthy elderly adults. *Br J Clin Pharmacol* 45: 83-6.
44. Robert Clarke, J.B., Ebba Nexo, Per M Ueland, Joern Schneede, John Scott, Anne Molloy, and John Grimley Evans, (2007) Low vitamin B-12 status and risk of cognitive decline in older adults. *Am J Clin Nutr.* 86:1384 –91.
45. Tangney CC, Tang Y, Evans DA, et al. (2009) Biochemical indicators of vitamin B12 and folate insufficiency and cognitive decline. *Neurology* 72, 361–367.
46. Hooshmand B, Solomon A, Kareholt I, et al. (2010) Homocysteine and holotranscobalamin and the risk of Alzheimer disease: a longitudinal study. *Neurology* 75, 1408–1414.
47. Kivipelto M, Annerbo S, Hultdin J, et al. (2009) Homocysteine and holotranscobalamin and the risk of dementia and Alzheimer’s disease: a prospective study. *Eur J Neurol* 16, 808–813.
48. Crystal HA, Ortof E, Frishman WH, et al. (1994) Serum vitamin B12 levels and incidence of dementia in a healthy elderly population: a report from the Bronx Longitudinal Aging Study. *J Am Geriatr Soc* 42, 933–936.
49. Wang HX, Wahlin A, Basun H, et al. (2001) Vitamin B(12) and folate in relation to the development of Alzheimer’s disease. *Neurology* 56, 1188–1194.
50. Ravaglia G, Forti P, Maioli F, et al. (2005) Homocysteine and folate as risk factors for dementia and Alzheimer disease. *Am J Clin Nutr* 82, 636–643.

51. Annerbo S, Wahlund L & Løkke J (2005) The relation between homocysteine levels and development of Alzheimer's disease in mild cognitive impairment patients. *Dement Geriatr Cogn Disord* 20, 209–214.
52. Annerbo S, Wahlund L & Løkke J (2006) The significance of thyroid-stimulating hormone and homocysteine in the development of Alzheimer's disease in mild cognitive impairment: a 6-year follow-up study. *Am J Alzheimers Dis Other Demen* 21, 182–188.
53. Eussen SJPM, Ferry M, Hininger I, et al. (2002) Five year changes in mental health and associations with vitamin B12/folate status of elderly Europeans. *J Nutr Health Aging* 6, 43–50.
54. Huang CW, Chang WN, Lui CC, et al. (2010) Impacts of hyperhomocysteinemia and white matter hyper-intensity in Alzheimer's disease patients with normal creatinine: an MRI-based study with longitudinal follow-up. *Curr Alzheimer Res* 7, 527–533.
55. La Rue A, Koehler KM, Wayne SJ, et al. (1997) Nutritional status and cognitive functioning in a normally aging sample: a 6-y reassessment. *Am J Clin Nutr* 65, 20–29.
56. Tu MC, Huang CW, Chen NC, et al. (2010) Hyperhomocysteinemia in Alzheimer dementia patients and cognitive decline after 6 months follow-up period. *Acta Neurol* 19, 168–177.
57. Kim J-M, Kim S-W, Shin I-S, et al. (2008) Folate, vitamin b(12), and homocysteine as risk factors for cognitive decline in the elderly. *Psychiatry Investig* 5, 36–40.
58. Haan MN, Miller JW, Aiello AE, et al. (2007) Homocysteine B vitamins, and the incidence of dementia and cognitive impairment: results from the Sacramento Area Latino Study on Aging. *Am J Clin Nutr* 85, 511–517.
59. Kado DM, Karlamangla AS, Huang M-H, et al. (2005) Homocysteine versus the vitamins folate, B6, and B12 as predictors of cognitive function and decline in older high-functioning adults: MacArthur Studies of Successful Aging. *Am J Med* 118, 161–167.
60. Elias MF, Sullivan LM, D'Agostino RB, et al. (2005) Homocysteine and cognitive performance in the Framingham offspring study: age is important. *Am J Epidemiol* 162, 644–653.

61. Teunissen CE, Blom AHJ, Van Boxtel MPJ, et al. (2003) Homocysteine: a marker for cognitive performance? A longitudinal follow-up study. *J Nutr Health Aging* 7, 153–159.
62. McCaddon A, Hudson P, Davies G, et al. (2001) Homocysteine and cognitive decline in healthy elderly. *Dement Geriatr Cogn Disord* 12, 309–313.
63. van den Kommer TN, Dik MG, Comijs HC, et al. (2010) Homocysteine and inflammation: predictors of cognitive decline in older persons? *Neurobiol Aging* 31, 1700–1709.
64. Kang JH, Irizarry MC & Grodstein F (2006) Prospective study of plasma folate, vitamin B12, and cognitive function and decline. *Epidemiology* 17, 650–657.
65. Tucker KL, Qiao N, Scott T, et al. (2005) High homocysteine and low B vitamins predict cognitive decline in aging men: the Veterans Affairs Normative Aging Study. *Am J Clin Nutr* 82, 627–635.
66. Mooijaart SP, Gussekloo J, Frolich M, et al. (2005) Homocysteine, vitamin B-12, and folic acid and the risk of cognitive decline in old age: the Leiden 85-Plus study. *Am J Clin Nutr* 82, 866–871.
67. Nurk E, Refsum H, Tell GS, et al. (2005) Plasma total homocysteine and memory in the elderly: the Hordaland Homocysteine Study. *Ann Neurol* 58, 847–857.
68. Garcia A, Haron Y, Pulman K, et al. (2004) Increases in homocysteine are related to worsening of stroop scores in healthy elderly persons: a prospective follow-up study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 59, 1323–1327.
69. Dufouil C, Alperovitch A, Ducros V, et al. (2003) Homocysteine, white matter hyperintensities, and cognition in healthy elderly people. *Ann Neurol* 53, 214–221.
70. Zylberstein DE, Lissner L, Bjorkelund C, et al. (2011) Midlife homocysteine and late-life dementia in women. A prospective population study. *Neurobiol Aging* 32, 380–386.
71. Kim JM, Stewart R, Kim SW, et al. (2008) Changes in folate, vitamin B12 and homocysteine associated with incident dementia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 79, 864–868.
72. Luchsinger JA, Tang MX, Shea S, et al. (2004) Plasma homocysteine levels and risk of Alzheimer disease. *Neurology* 62, 1972–1976.

73. Bowirrat A, Friedland RP, Farrer L, et al. (2002) Genetic and environmental risk factors for Alzheimer's disease in Israeli Arabs. *J Mol Neurosci* 19, 239–245.
74. Oulhaj A, Refsum H, Beaumont H, et al. (2010) Homocysteine as a predictor of cognitive decline in Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry* 25, 82–90.
75. Small BJ & Backman L (1998) Predictors of longitudinal changes in memory, visuospatial, and verbal functioning in very old demented adults. *Dement Geriatr Cogn Disord* 9, 258–266.
76. Small BJ, Viitanen M, Winblad B, et al. (1997) Cognitive changes in very old persons with dementia: the influence of demographic, psychometric, and biological variables. *J Clin Exp Neuropsychol* 19, 245–260.
77. Ravaglia G, Forti P, Maioli F, et al. (2006) Conversion of mild cognitive impairment to dementia. Predictive role of mild cognitive impairment subtypes and vascular risk factors. *Dement Geriatr Cogn Disord* 21, 51–58.
78. Willis CD, Elshaug AG, Milverton JL, et al. (2011) Diagnostic performance of serum cobalamin tests: a systematic review and meta-analysis. *Pathology* 43, 472–481.
79. Green R (2011) Indicators for assessing folate and vitamin B-12 status and for monitoring the efficacy of intervention strategies. *Am J Clin Nutr* 94, 666S–672S.
80. Folstein MF, Folstein SE & McHugh PR (1975) "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 12, 189–198.
81. Schafer JH, Glass TA, Bolla KI, et al. (2005) Homocysteine and cognitive function in a population-based study of older adults. *J Am Geriatr Soc* 53, 381–388.
82. Smith A, Smith SM, de Jager CA, et al. (2010) Homocysteine lowering by B vitamins slows the rate of accelerated brain atrophy in mild cognitive impairment: a randomized controlled trial. *PLoS One* 5, 1–10.
83. de Lau LML, Smith AD, Refsum H, et al. (2009) Plasma vitamin B12 status and cerebral white-matter lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 80, 149–157.
84. Payton A (2009) The impact of genetic research on our understanding of normal cognitive ageing: 1995 to 2009. *Neuropsychol Rev* 19, 451–477.

85. Bunce D, Kivipelto M & Wahlin A (2004) Utilization of cognitive support in episodic free recall as a function of apolipoprotein E and vitamin B12 or folate among adults aged 75 years and older. *Neuropsychology* 18, 362–370.
86. Bunce D, Kivipelto M & Wahlin A (2005) Apolipoprotein E, B vitamins, and cognitive function in older adults. *J Gerontol: Series B: Psychol Sci Soc Sci* 60, P41–P48.
87. Brown B, Huang MH, Karlamangla A, et al. (2011) Do the effects of APOE-epsilon4 on cognitive function and decline depend upon vitamin status? *MacArthur Studies of Successful Aging. J Nutr Health Aging* 15, 196–201.
88. Selhub J, Morris MS & Jacques PF (2007) In vitamin B12 deficiency, higher serum folate is associated with increased total homocysteine and methylmalonic acid concentrations. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104, 19995–20000.
89. Morris MS, Jacques PF, Rosenberg IH, et al. (2007) Folate and vitamin B-12 status in relation to anemia, macrocytosis, and cognitive impairment in older Americans in the age of folic acid fortification. *Am J Clin Nutr* 85, 193–200.
90. Smith AD, Kim Y-I & Refsum H (2008) Is folic acid good for everyone? *Am J Clin Nutr* 87, 517–533.