

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

DPTO. DE CIENCIAS MÉDICAS Y QUIRÚRGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD



TESIS DOCTORAL

**“PREVALENCIA DEL DÉFICIT DE VITAMINA B12 EN MAYORES DE 60
AÑOS HOSPITALIZADOS Y ESTUDIO DEL POLIMORFISMO C677T DEL
GEN DE LA ENZIMA 5,10-MTHFR EN PACIENTES CON DÉFICIT DE
VITAMINA B12”**

D^a. María Belén Alonso Ortiz

Las Palmas de Gran Canaria

29 Noviembre de 2013

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

DPTO. DE CIENCIAS MÉDICAS Y QUIRÚRGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

PROGRAMA DE DOCTORADO: AVANCES EN MEDICINA INTERNA.
BIENIO. 2002-2004



TESIS DOCTORAL

**“PREVALENCIA DEL DÉFICIT DE VITAMINA B12 EN MAYORES DE 60
AÑOS HOSPITALIZADOS Y ESTUDIO DEL POLIMORFISMO C677T DEL
GEN DE LA ENZIMA 5,10-MTHFR EN PACIENTES CON DÉFICIT DE
VITAMINA B12”**

D^a. María Belén Alonso Ortiz

Dirección: Dra. D^a. Alicia Conde Martel

La Directora

La Doctoranda

Las Palmas de Gran Canaria, a 29 de noviembre de 2013

Dña. Alicia Conde Martel, Doctora en Medicina y Profesora Titular de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria

CERTIFICA:

Que el trabajo titulado: **“PREVALENCIA DEL DÉFICIT DE VITAMINA B12 EN MAYORES DE 60 AÑOS HOSPITALIZADOS Y ESTUDIO DEL POLIMORFISMO C677T DEL GEN DE LA ENZIMA 5,10-MTHFR EN PACIENTES CON DÉFICIT DE VITAMINA B12”** ha sido realizado bajo mi dirección por la Licenciada en Medicina y Cirugía Dña. María Belén Alonso Ortiz, considerando que es APTA para su defensa ante Tribunal y reúne las condiciones exigibles para optar al grado de **DOCTORA**.

Para que conste, expido y firmo esta certificación en Las Palmas de Gran Canaria a 29 de noviembre de 2013.

Fdo. Dra. Dña. Alicia Conde Martel
Profesora Titular del Dpto. de Ciencias Médicas y Quirúrgicas
Universidad de Las Palmas de Gran Canaria

A mis padres y a Raúl,

Agradecimientos

A mis padres, por haberme dado la vida, unos valores increíbles y la mejor educación.

A Raúl, por ser el mejor amigo y compañero del mundo.

A Mario y Nina, mis segundos padres.

A Salesa y familia, por considerarme “una más” de la familia.

A la Dra. Alicia Conde, directora de este proyecto, por descubrirme el maravilloso mundo de la Vitamina B12, por sus buenos consejos, asesoramiento continuo y paciencia infinita.

A la Dras. Sofía Pérez y Amel Arkuch por ser desde un principio “mis referentes” en la difícil tarea de convertirme en médico internista.

Al Dr. Noel Lorenzo y al Dr. Eladio Pardillo por su amistad, apoyo y ayuda constante.

A mis compañer@s del Servicio de Medicina Interna, enfermer@s y auxiliares del Servicio de Medicina Interna por su incalculable ayuda en la realización de este proyecto.

A los Dres. José Carlos Rodríguez y Francisco Rodríguez Esparragón por su colaboración, asesoramiento y buenos consejos.

A la Dra. Yolanda Pérez y a la Sra. Lidia, compañeras de la Unidad de Investigación. Sin vuestra ayuda este proyecto no hubiese sido posible.

A la Dra. Ainara Arín por su amistad, profesionalidad, comprensión y asesoramiento en este proyecto.

A Juan Verona, por ser el mejor ilustrador médico de este planeta y un gran amigo.

A Sandra y Salvador, los mejores bibliotecarios que jamás he conocido. Sin vosotros este proyecto no habría llegado a su fin.

A Paz, Consuelo y Mila, "mis amigas neumológicas" por su amistad, apoyo constante, cariño y comprensión, además de todo lo que me habéis enseñado sobre esta bonita y difícil profesión. Gracias de corazón.

A mis amigos por quererme tal y como soy, por vuestros ánimos y apoyo y por haber entendido "mis ausencias" para poder llevar a cabo este proyecto.

A los pacientes y a sus familiares que han participado activamente en este proyecto por su colaboración, ánimo y comprensión.



“Debe quedar claro que con todo lo que he dicho hasta en mi investigación tengo una deuda enorme con el trabajo de otros, mis colegas que han aportado muchas de las ideas que he usado y muchos ejemplos interesantes de análisis y mis colaboradores, sin cuyo cerebro, ojos y manos muy poco se habría hecho”

Dorothy Crowfoot Hodgkin (1910-1994)

Premio Nobel de Química 1964

INDICE	1
A. INTRODUCCIÓN	7
1.- VITAMINA B12	9
1.1 Generalidades	9
1.1.1 Concepto	9
1.1.2 Estructura química	12
1.1.3 Fisiología de la absorción	14
1.1.4 Metabolismo	16
1.1.5 Funciones	17
1.2 Déficit de Vitamina B12	18
1.2.1 Causas del déficit de la Vitamina B12	18
1.2.2 Epidemiología:	24
1.2.2.1 Prevalencia	24
1.2.2.2 Mortalidad	26
1.2.2.3 Medidas preventivas	27
1.2.3 Fases y etapas del déficit de Vitamina B12	27
1.2.4 Consecuencias del déficit de Vitamina B12	29
1.2.4.1 Manifestaciones hematológicas	31
1.2.4.2 Manifestaciones neuro-psiquiátricas	32
1.2.4.3 Otras manifestaciones	34
1.2.5 Diagnóstico del déficit de Vitamina B12	36
1.2.5.1 Definición/es del déficit de Vitamina B12	37
1.2.5.2 Determinación sérica de Vitamina B12	38
1.2.5.3 Otros biomarcadores	40
1.2.5.4 Pros y contras de los diferentes biomarcadores	43
1.2.5.5 Aproximación diagnóstica	44
1.2.6 Tratamiento del déficit de Vitamina B12	47
2.- HOMOCISTEÍNA	49
2.1 Generalidades	49
2.2 Teoría de la homocisteína	50
2.3 Metabolismo de la homocisteína	52
2.4 Prevalencia de la hiperhomocisteinemia	53

2.5 Etiología de la hiperhomocisteinemia	54
2.6 Consecuencias de la hiperhomocisteinemia	56
3.- POLIMORFISMO C677T DE LA ENZIMA 5,10-METILEN TETRAHIDROFOLATO REDUCTASA (MTHR)	57
3.1 Generalidades	57
3.2 Variantes genéticas	58
3.3 Prevalencia de las formas genotípicas	59
3.4 Consecuencias clínicas	61
3.5 Polimorfismo C677T y déficit de Vitamina B12	63
B. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	65
C. PACIENTES Y MÉTODO	69
1.- Descripción del estudio	71
2.- Población	71
3.- Primera parte del estudio	71
4.- Segunda parte del estudio	72
5.- Técnica de muestreo	72
6.- Variables analizadas	72
7.- Grupo control	76
8.- Seguimiento de los pacientes	76
9.- Amplificación por PCR y análisis de la mutación C677T	76
9.1 Extracción del ADN por el método Salting out	76
9.2 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	78
9.3 Genotipado del polimorfismo C677T	83
10.- Análisis bibliográfico	84
11.- Análisis estadístico	86
D. RESULTADOS	87
PARTE PRIMERA: ESTUDIO DESCRIPTIVO. PREVALENCIA DEL DÉFICIT DE VITAMINA B12. ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO	89
1.- Características de la muestra	89

1.1 Prevalencia del déficit de Vitamina B12	89
1.2 Antecedentes médicos	92
1.3 Hábitos tóxicos	93
1.4 Medicación previa al ingreso	93
1.5 Motivo de ingreso	95
1.6 Diagnósticos al alta	95
1.7 Parámetros analíticos	96
1.8 Manifestaciones hematológicas	98
1.9 Manifestaciones no hematológicas	99
1.10 Estudio etiológico	100
1.11 Mortalidad y reingresos	101
2.- Análisis bibliográfico de estudios de prevalencia del déficit de Vitamina B12 (1990-2012)	104
 PARTE SEGUNDA: ESTUDIO DE LA MUTACION C677T DEL GEN DE LA ENZIMA 5,10-MTHFR EN PACIENTES CON DÉFICIT DE VITAMINA B12. CASOS-CONTROL	117
1.- Relación entre el déficit de Vitamina B12 y características demográficas	117
2.- Otros biomarcadores relacionados con el déficit de la Vitamina B12	119
2.1 Acido metilmalónico	119
2.2 Homocisteína	120
2.3 Acido fólico	124
3.- Antecedentes médicos	125
4.- Tratamientos previos	125
5.- Diagnósticos al alta	126
6.- Tratamientos farmacológicos al alta	127
7.- Alteraciones clínicas y analíticas	128
8.- Aproximación etiológica del déficit de Vitamina B12	132
9.- Polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR	134
9.1 Relación entre las distintas formas del polimorfismo con los niveles de Vitamina B12 y homocisteína en plasma	136
9.2 Relación entre las distintas formas del polimorfismo y la presencia de anemia en los pacientes con déficit de Vitamina B12	138

10.- Relación entre el déficit de Vitamina B12 y la aparición de eventos cardiovasculares, reingresos o éxitos en los pacientes estudiados	139
11.- Exitus durante e ingreso y seguimiento	141
E. DISCUSIÓN	145
1.- Prevalencia del déficit de Vitamina B12 y análisis bibliográfico	147
1.1 Déficit de Vitamina B12 y relación con la edad	155
1.2 Déficit de Vitamina B12 y relación con el género	156
1.3 Déficit combinado de Vitamina B12 y ácido fólico	157
2.- Diagnóstico del déficit de Vitamina B12	159
3.- Aproximación diagnóstica del déficit de Vitamina B12	161
4.- Alteraciones clínico-analíticas y enfermedades asociadas	167
5.- Polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR	175
5.1 Prevalencia de las formas genotípicas	175
5.2 Relación entre el polimorfismo C677T, niveles de Vitamina B12 y homocisteína en plasma	177
5.3 Relación entre el polimorfismo C677T y la presencia de anemia en los pacientes con déficit de Vitamina B12	181
6.- Eventos cardiovasculares, reingresos y mortalidad. Relación con déficit de Vitamina B12, homocisteína y polimorfismo C677T	182
F. CONCLUSIONES	195
G. BIBLIOGRAFÍA	199
H. ANEXOS	273
1. Índice de abreviaturas	275

A. INTRODUCCIÓN

A. INTRODUCCIÓN

1.- VITAMINA B12

1.1 Generalidades

1.1.1 Concepto

La Vitamina B12 fue descubierta hace 60 años. Sin embargo, sus efectos bioquímicos, fisiológicos y neurológicos todavía no han sido completamente definidos (Solomon LR, 2007). La Vitamina B12 es conocida también con el nombre de Cobalamina (Cbl), debido a que contiene un átomo de Cobalto en su estructura química (Dali-Youcef N, 2009; Kozyraki R, 2013) (**Figuras 1 y 2**). Es la única vitamina que presenta esta característica. Existen además otras particularidades que la convierten en un compuesto heterogéneo e hidrosoluble muy especial. Es la vitamina más grande y compleja de todas (Watanabe F, 2007). Tiene un peso molecular de 1.335 Da y se encuentra en diferentes formas, siendo las más activas la Hidroxi-cobalamina (OH- Cbl) y la Ciano-cobalamina (CN-Cbl) (Battersby AR, 1994; Watanabe F, 2007; Stover PJ, 2010). Además, por la importancia de sus actuaciones a nivel celular resulta esencial para que nuestro organismo funcione correctamente (Iqtidar N, 2012; Bosco C, 2012).

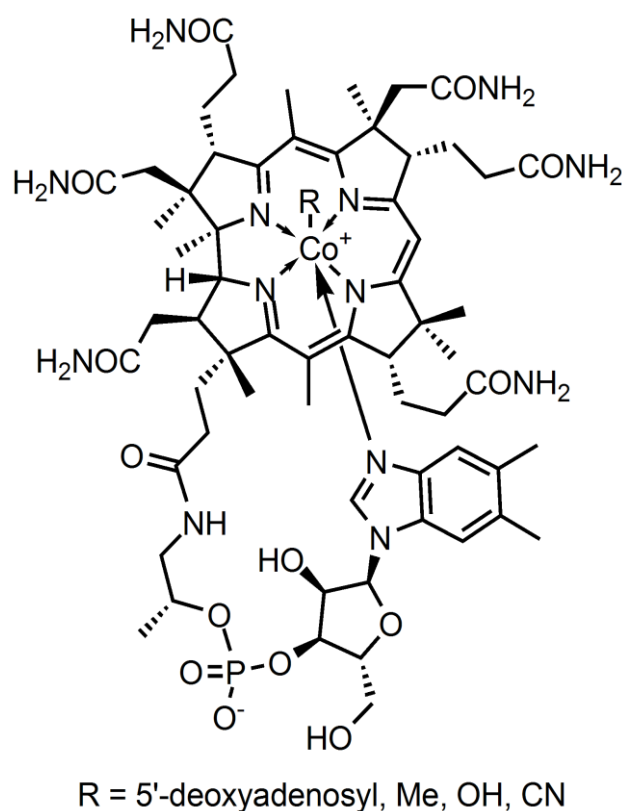
Las fuentes fundamentales de la Vitamina B12 son las carnes rojas y en mucha menor proporción pescados, leche y huevos (Wolters M, 2004; Hoffman R, 2005; Allen LH, 2008; Brito A, 2012).

Esta vitamina hidrosoluble pertenece al complejo B y ha sido la última en descubrirse. Este hecho ocurrió en 1948 en los Laboratorios Merck por los químicos Karl Folkers y Rockers quienes aislaron a partir de hígado de vacuno la Ciano-cobalamina, reconociéndola como el factor anti-anemia perniciosa (Olson RE, 2001). En 1962, Dorothy Crowfoot Hodgkin publicó la estructura de este compuesto habiéndola elucidado mediante la difracción de rayos X. En 1964, le concedieron el Premio Nobel de Química por sus estudios (Glusker JP, 1994; Scott JM, 2012; Kozyraki R, 2012) (**Foto 1a**). En 1978, la Vitamina B12 fue totalmente sintetizada por el químico de origen suizo Albert Eschenmoser (Garritz A, 1999) (**Foto 1b**).

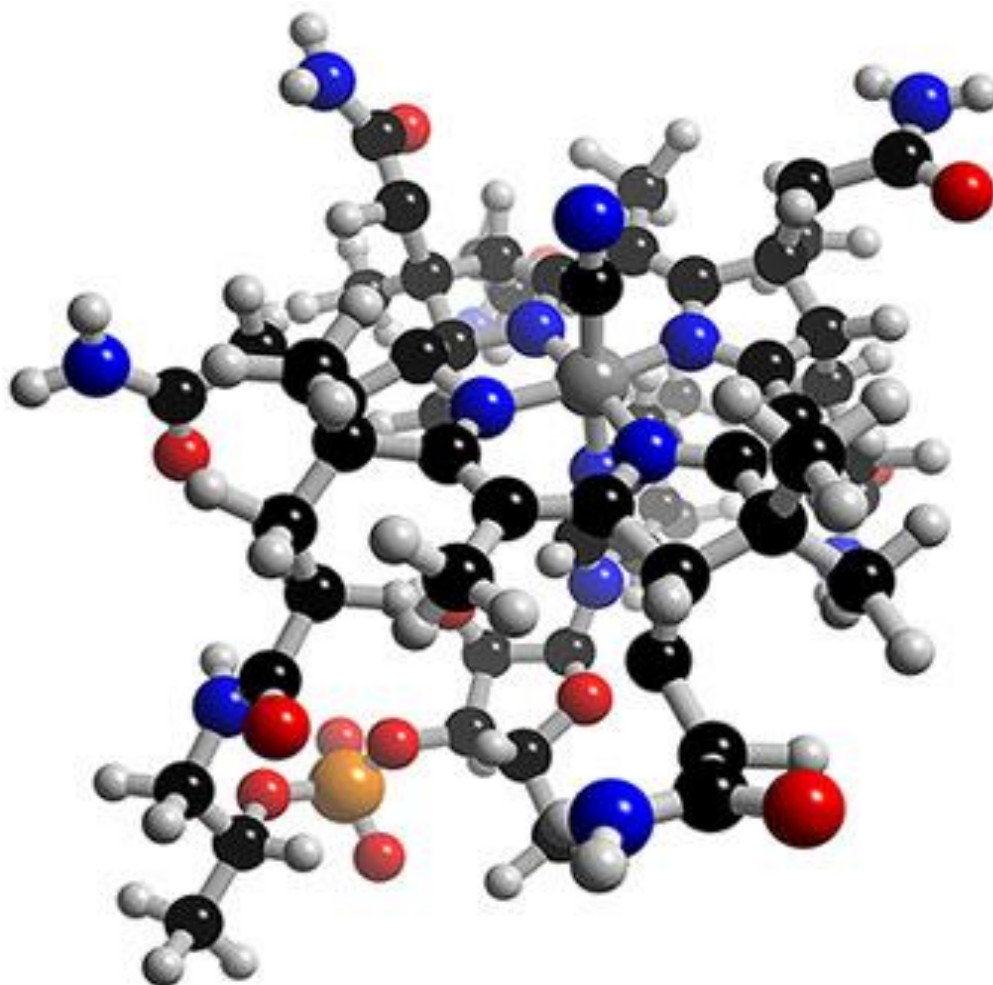
Las necesidades diarias de Vitamina B12 en niños son de 1,2 µg y de 2,5 a 5 µg en adultos y personas de edad avanzada, no existiendo grandes variaciones en relación a la edad y el sexo (Weng SC, 2008; Stover PJ, 2010; Schrier SL, 2012).

La Vitamina B12 se almacena en el hígado (50%). Las reservas son aproximadamente de 2-3 mg (Lechner K, 2005; Chatthanawaree W, 2011; Schrier SL, 2012). La Vitamina B12 se excreta en la bilis y se reabsorbe a través de la circulación enterohepática de una manera dependiente del factor intrínseco (FI). Debido a este proceso y a la absorción renal una ingesta diaria de 1-2 µg de Vitamina B12 es suficiente para mantener unos niveles adecuados en el organismo (Iqtidar N, 2012; Kozyraki R, 2012; Hughes CF, 2013). Así la Vitamina B12 se va utilizando a medida que el organismo lo necesita. Las cantidades que se almacenan pueden satisfacer nuestras necesidades por un periodo de 3 a 5 años si por alguna razón cesa el aporte ó no se absorbe (Hoffman R, 2005; Rufenach P, 2008; Schrier SL, 2012). También es sintetizada activamente por numerosas bacterias intestinales, pero su aprovechamiento es mínimo, ya que se elimina mayoritariamente por las heces (Ermens AA, 2003; Wolters M, 2004; Brito A, 2012).

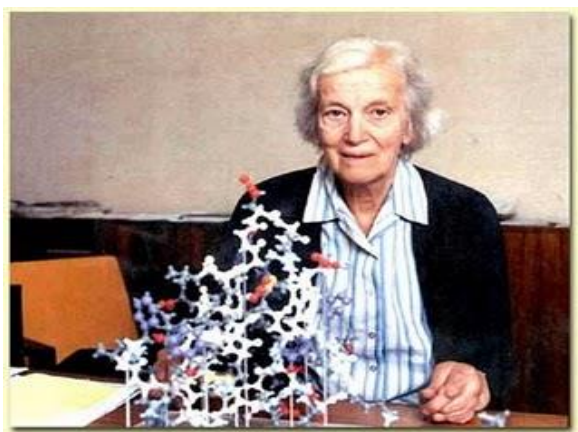
Figura 1. Estructura química de la Vitamina B12.



Fuente: Dali-Youcef N. An update on cobalamin deficiency in adults. *QJM* 2009; 102 (1):17-28.



Fuente: www.diamond.ac.uk ; www.chemistry.about.com/



Arriba. Figura 2. Estructura molecular en 3D de la Vitamina B12. **Abajo. Foto 1a.** La Dra. Dorothy Crowfoot Hodgkin, recibió el Premio Nobel de Química en 1964 por sus interesantes aportaciones a la biología molecular. **A la derecha. Foto 1b.** El químico suizo Dr. Albert Eschenmoser.



1.1.2 Estructura química

La Vitamina B12 estructuralmente presenta características similares a las de las porfirinas. Pertenece a la familia de los compuestos tipo “corrinoídes” resultantes de la unión de cuatro anillos pirrólicos (anillo de Corrina) alrededor de un átomo central de Cobalto (Co^{++}) (Ermens AA, 2003; Wolters M, 2004; Shane B, 2008; Dali-Youcef N, 2009; Stover PJ, 2010). En esta estructura el átomo de Cobalto tiene seis valencias, cuatro de las cuales establecen enlaces covalentes con los correspondientes anillos pirrólicos. La quinta valencia se une a un nucleótido, la 5-6 dimetilbencimidazol, y la sexta se une a radicales diferentes originando los diferentes derivados de la Cobalamina: Cianocobalamina, Hidroxicobalamina, Metilcobalamina y Desoxiadenosilcobalamina (Forrellat Barrios M, 1999) (**Tabla 1 y Figura 3**). Las formas que actúan como coenzimas en los humanos son la Metil y Desoxiadenosilcobalamina (conocida también como Coenzima B12) (Battersby AR, 1994; Aguirre Errasti C, 2002; Ermens AA, 2003; Pérez V, 2005; Stover PJ, 2010; Kozyraki R, 2012).

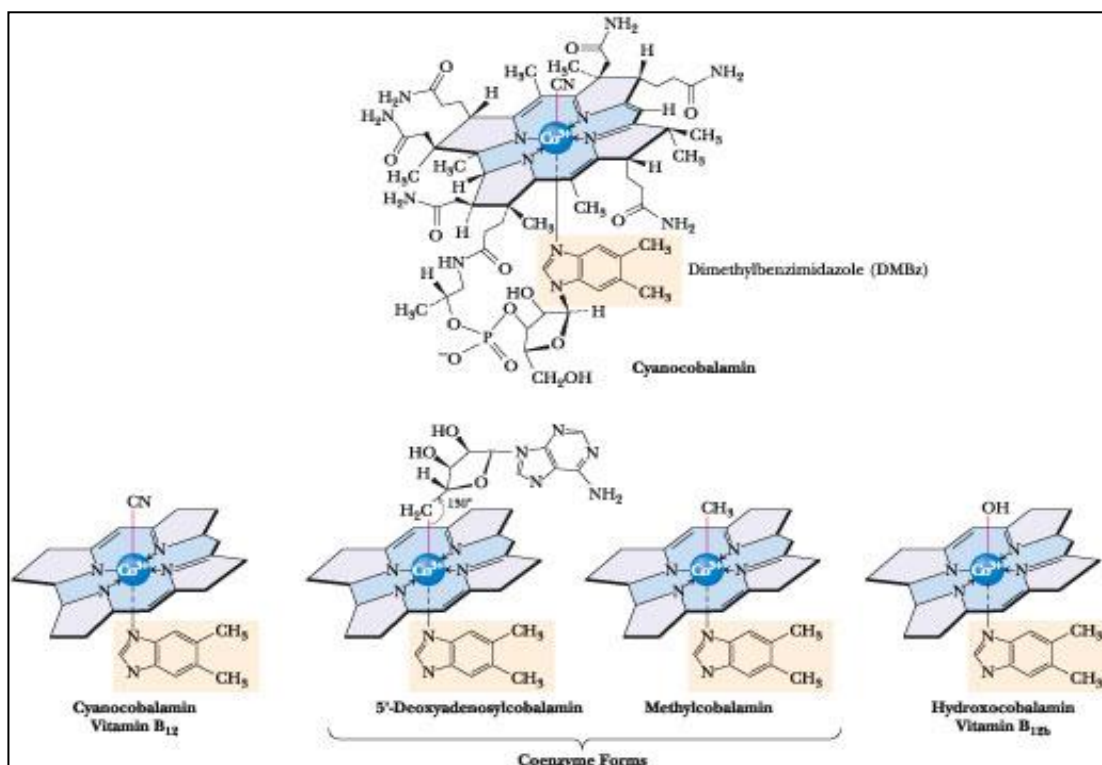
La Ciano-cobalamina, forma sintética de la Vitamina B12 es la más utilizada con fines clínicos (O’Leary F, 2010; Stover SJ, 2010). Su fórmula molecular es $\text{C}_{63}\text{H}_{88}\text{CoN}_{14}\text{O}_{14}\text{P}$, contiene un 4% de Cobalto y se presenta como cristales de color rojo oscuro a la luz polarizada (**Foto 2**). La otra forma sintética es la Hidroxicobalamina, la cual también se comercializa en nuestro país. Generalmente, se presenta como combinación con otras Vitaminas del grupo B.

Tabla 1. Derivados de la Cobalamina.

Radical	Nombre del derivado
CN^- (ciano)	Cianocobalamina
OH^- (hidroxilo)	Hidroxicobalamina
CH_3 (metilo)	Metilcobalamina
5'desoxiadenosil	Desoxiadenosilcobalamina

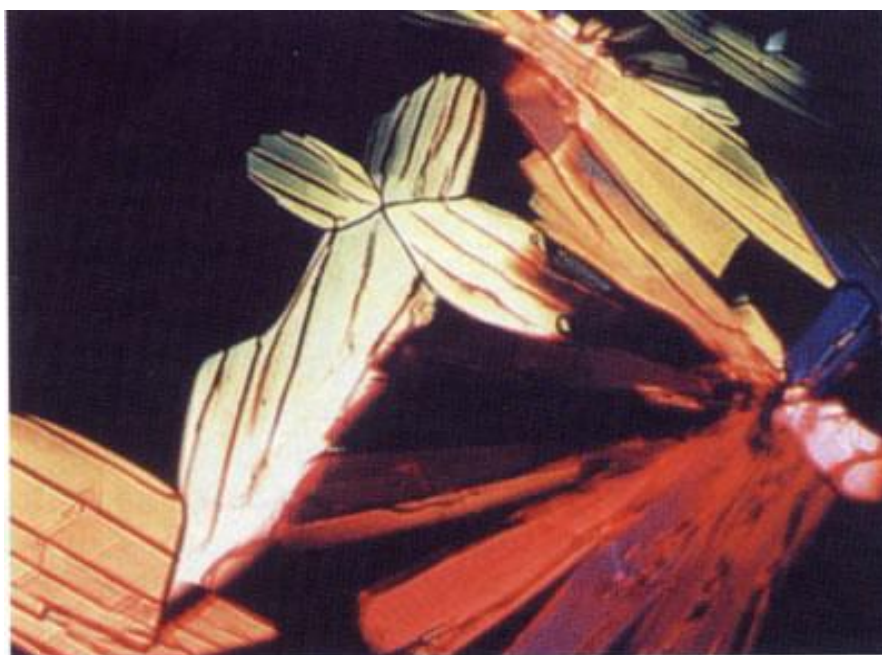
Fuente: Forrellat M. Vitamina B12: metabolismo y aspectos clínicos de su deficiencia. *Rev Cub Hem Immunol Hemoter* 1999; 15 (3):159-174.

Figura 3. Estructura química de los derivados de la Cobalamina.



Fuente: www.chm.bris.ac.uk

Foto 2. Cristales de Cianocobalamina en luz polarizada.



Fuente: www.chm.bris.ac.uk

1.1.3 Fisiología de la absorción de la Vitamina B12

Como se expuso anteriormente, la entrada de Vitamina B12 en el organismo se produce a través de los alimentos, existiendo dos vías de absorción de la Cobalamina en el organismo, la *asociada al factor intrínseco (FI)* y la *difusión pasiva* (Aguirre Errasti C, 2002; Cuskelly GJ, 2007; Weng SC, 2008; Stover PJ, 2010).

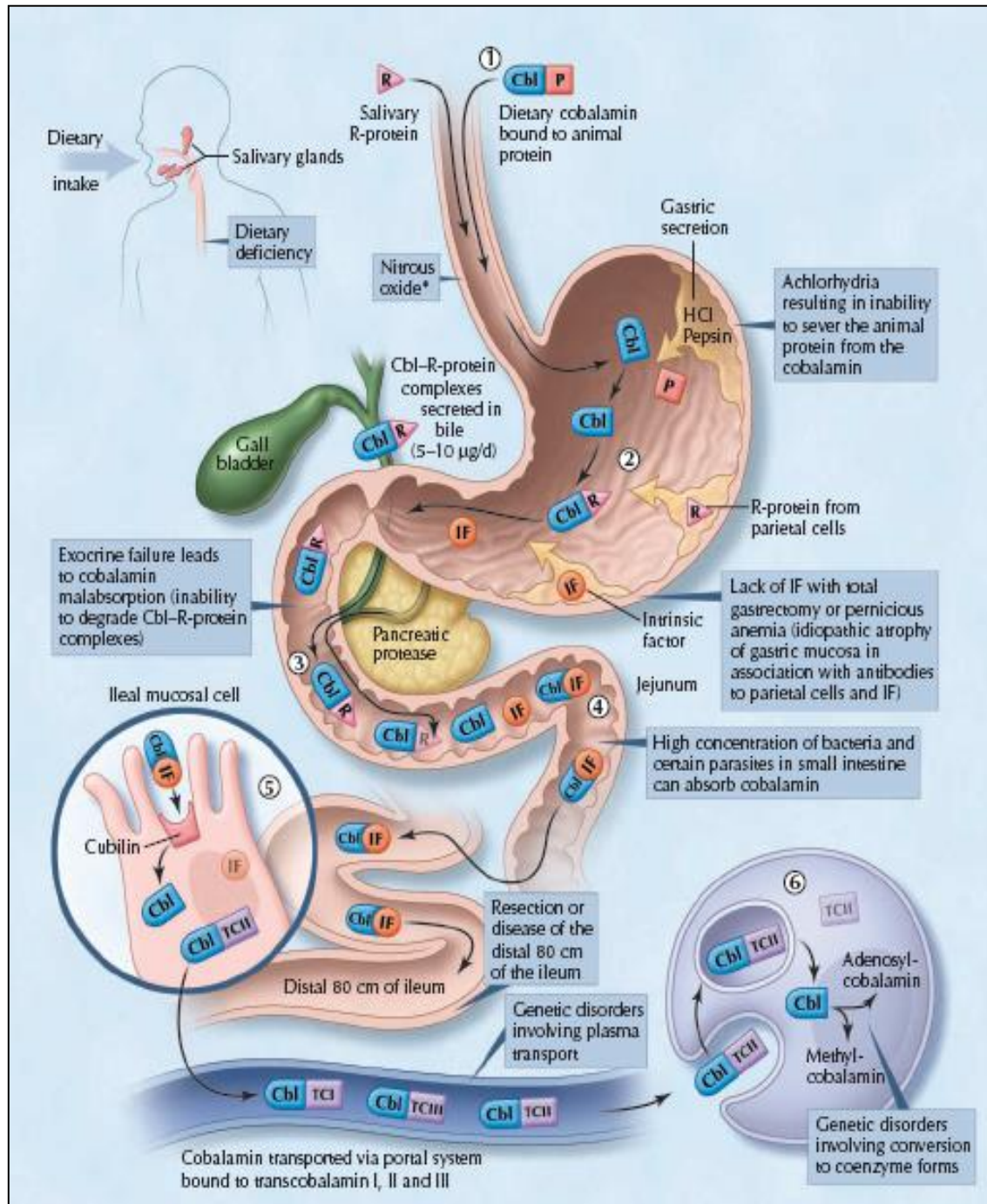
La *primera vía* que se produce en el 99% de los casos es un proceso activo que precisa de un estómago intacto, factor intrínseco, enzimas pancreáticas y un ileon terminal normal (Cuskelly GJ, 2007; Kozyraki R, 2012). La Vitamina B12 se ingiere junto con las *proteínas animales (P)*. En el estómago por acción de la pepsina y del ácido clorhídrico (HCl) la Vitamina B12 queda libre uniéndose entonces a una proteína denominada *proteína R*. Ésta es secretada por las células parietales del estómago y en menor medida por las glándulas salivales. También en el estómago se segrega el *factor intrínseco (FI)*, glicoproteína fundamental en el proceso de absorción de la Vitamina B12 (Andrès E, 2004; Stabler SP, 2004; Hoffman R, 2005; Yacut M, 2010; Chatthanawaree W, 2011; Kozyraki R, 2012) (**Figura 4**).

En el duodeno, existen unas enzimas que favorecen la ruptura del complejo Vitamina B12-proteína R y la unión de la Vitamina B12 al factor intrínseco. Posteriormente, la Vitamina B12 se absorbe por endocitosis en las células del ileon terminal, donde los enterocitos tienen unos receptores específicos (cubilin) para el complejo constituido por el factor intrínseco y la Vitamina B12 (Andrès E, 2004; Scott JM, 2012; Braillard O, 2012).

Una vez absorbida y dentro de los vasos sanguíneos, la Cobalamina viaja unida a unas proteínas plasmáticas llamadas Transcobalaminas (TC). Existen tres tipos, siendo dos las más importantes, la tipo I también conocida como *haptocorrina*, que transporta aproximadamente el 80% de la Vitamina B12 circulante, mientras que la tipo II se une a la Vitamina B12 restante (20%) para llegar a las células de la médula ósea y a las hepáticas donde se almacena (Ermens AA, 2003; Weng SC, 2008; Shane B, 2008; O'Leary F, 2010; Herrmann W, 2012). La unión de la TC II con la Vitamina B12 también se conoce como Holotranscobalamina (holoTC) o Vitamina B12 activa, por su capacidad para entrar en las células (Boulat O, 2012; Herrmann W, 2012).

Posteriormente, esta unión se rompe por lisozimas, quedando libre la Vitamina B12 para ser utilizable por la célula (Andrès E, 2004; Chatthanawaree W, 2011; Kozyraki R, 2012) (Figura 4).

Figura 4. Absorción y digestión de la Vitamina B12.



Fuente: Andrès E. Vitamin B12 deficiency in elderly patients. CMAJ 2004; 171 (3): 251-259.

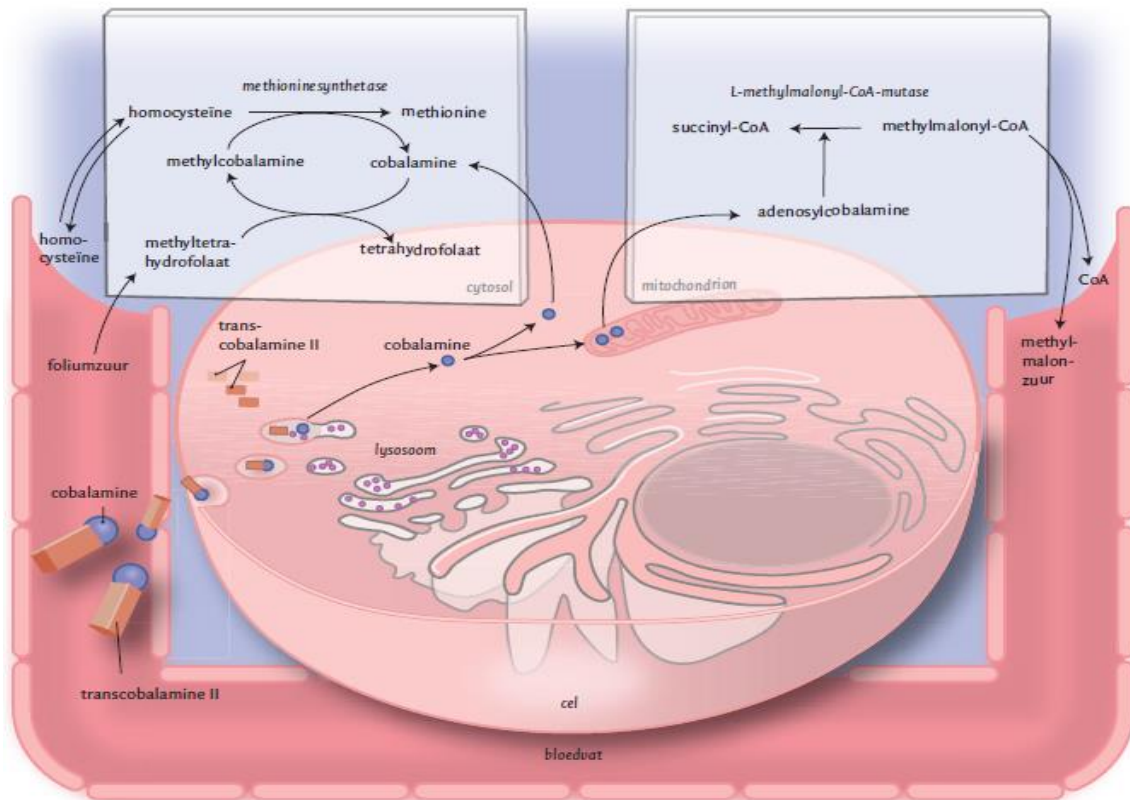
Interpretación numérica de la Figura 4:

- (1) La vía metabólica de la Vitamina B12 se inicia cuando se consume la Cobalamina (Cbl) a través de los alimentos de origen animal que la contienen. Llega al estómago unida a las *proteínas animales (P)*.
- (2) En el estómago la *pepsina y el ácido clorhídrico (HCl)* la liberan de la proteína animal, quedando la Cobalamina libre. La mayor parte de la Cbl libre está unida a la proteína R, la cual se secreta a nivel de las células parietales y glándulas salivales. El *factor intrínseco (FI)* también se segrega en el estómago, pero su unión a la Cobalamina es débil en presencia de la proteína R gástrica y salival.
- (3) En el duodeno, la Cobalamina libre se une a la proteína R, además se incorporan a la luz duodenal complejos de Cobalamina-proteína R que han sido secretados en la bilis. Posteriormente, las enzimas pancreáticas serán las encargadas de liberar la Cobalamina de estos complejos.
- (4) La Cobalamina se une entonces con el factor intrínseco. El complejo factor intrínseco-Cobalamina permanece inalterado hasta alcanzar los 80 cm distales del íleon.
- (5) En esta zona del íleon estos complejos se unen a unos receptores específicos de las células mucosas intestinales denominados *cubilin*. Es entonces cuando la Cobalamina se une a unas proteínas transportadoras conocidas como Transcobalaminas I, II y III (TCI, TC II y TC III). La Transcobalamina II, aunque representa sólo una pequeña fracción (aproximadamente el 20% de todas las transcobalaminas), es la más importante porque es capaz de transportar la Cobalamina a todas las células en el cuerpo. La Cbl es posteriormente transportada a través del sistema portal.
- (6) Dentro de cada celda, el complejo Transcobalamina II-Cobalamina se recoge por medio de endocitosis y la Cobalamina es liberada. Posteriormente, se convierte enzimáticamente en sus 2 formas que sirven de coenzimas, la *Metil-cobalamina y Adenosil-cobalamina*.

1.1.4 Metabolismo de la Vitamina B12

Hay dos reacciones metabólicas esenciales en el cuerpo que requieren de la Vitamina B12 como cofactor (Snow CF, 1999; Wolters M, 2004; Stover PJ, 2010; Kräutler B, 2012; Stabler SP, 2013). La *primera* de estas reacciones ocurre en la mitocondria de la célula. Durante el catabolismo de los ácidos grasos con un número impar de átomos de carbono y de los aminoácidos valina, isoleucina y treonina, el Propionil-CoA resultante se convierte a Succinil-CoA para la oxidación en el ciclo de los ácidos tricarboxílicos ó ciclo de Krebs (Wiersinga WJ, 2005; Shane B, 2008; Chatthanawaree W, 2011). La *segunda reacción* tiene lugar en el citosol de la célula. En este proceso la Vitamina B12 cataliza la conversión de homocisteína (Hcy) a metionina mediante la enzima Metionina sintasa (MS). Esta reacción da lugar a la transferencia del grupo metílico de N⁵-Metiltetrahidrofolato a Hidroxi-cobalamina generando el Tetrahidrofolato (THF) y la Metil-cobalamina durante el proceso de conversión (Shane B, 2008; Nielsen MJ, 2012) **(Figura 5).**

Figura 5. Funciones metabólicas de la Vitamina B12.



Fuente: Wiersinga WJ. *Diagnosis of vitamin B12 revised.* Ned Tij Gen 2005; 149 (50):2789-2794.

1.1.5 Funciones de la Vitamina B12

Entre las funciones de la Vitamina B12 caben destacar las siguientes: interviene en la síntesis de ADN, ARN y proteínas; interviene en la formación de glóbulos rojos (Martínez-Estrada KM, 2013); está involucrada de forma crucial en la proliferación, maduración y regeneración de las células nerviosas; participa en la síntesis de neurotransmisores y en el mantenimiento de la vaina de mielina de las neuronas (Stabler SP, 2013); media en la transformación de los ácidos grasos en energía contribuyendo a mantener la reserva energética de los músculos (**Figura 5**); interviene en el buen funcionamiento del sistema inmune y es necesaria para el metabolismo del ácido fólico (Baik HW, 1999; Shane B, 2008; Herrmann W, 2008; Kozyraki R, 2012).

1.2. Déficit de Vitamina B12

1.2.1 Causas del déficit de Vitamina B12

Las causas de déficit de Vitamina B12 se han dividido clásicamente en tres grupos: deficiencia nutricional, síndromes malabsortivos y otras causas gastrointestinales (Mariño Suárez JE, 2012; Oh R, 2003; Brito A, 2012).

Otra forma de clasificarlas es según la fase de la absorción y factores del metabolismo de la Vitamina B12 que estén comprometidos (Dharmarajan TS, 2001; Stabler SP, 2013) (Tabla 2).

Tabla 2. Fases de la absorción y factores del metabolismo de la Vitamina B12 y causas correspondientes de la deficiencia.

Fases y factores del metabolismo de la Vitamina B12		Causas del déficit de Vitamina B12
Entradas	Dieta	Vegetarianos estrictos Pacientes graves y pacientes institucionalizados o en hospitales psiquiátricos
Digestión	Haptocorrina, Secreciones gástricas (HCl y Pepsina), Factor intrínseco, Secreciones pancreáticas y biliares, Ciclo entero-hepático	Gastrectomía Anemia perniciosa Sdr. de malabsorción alimentaria Pancreatitis crónica
Absorción	Factor intrínseco y Cubilin	Resección ileal Malabsorción Anemia perniciosa Sdr. de malabsorción alimentaria
Transporte	Transcobalaminas	Deficiencia congénita de Transcobalaminas
Metabolismo	Metabolismo intracelular fundamentado en varias enzimas intracelulares	Deficiencias congénitas en varias enzimas intracelulares

Abreviatura: HCl: Ácido Clorhídrico.

Adaptado de: Dharmarajan TS. Approaches to vitamin B12 deficiency. *Postgrad Med* 2001; 110 (1):99-105.

En relación con la anterior organización, se puede realizar la siguiente clasificación que incluye además causas por aumento de las necesidades (Tabla 3).

Tabla 3. Causas de la deficiencia de Vitamina B12.

1. Alteraciones dietéticas (baja/nula ingesta)
Vegetarianos estrictos. Kwashiorkor. Alcoholismo crónico. Pacientes mayores ó pacientes psiquiátricos institucionalizados.
2. Alteraciones gástricas
Anemia perniciosa (AP), juvenil y del adulto. Procesos infiltrativos gástricos. Gastrectomía/cirugía bariátrica (Bypass gástrico). Gastritis atrófica - infección por <i>H. Pylori</i> .
3. Alteraciones intestinales
Resección ileal ó bypass. E. de Crohn /Celiaquia /Esclerodermia / Amiloidosis /Enfermedad de Wipple. Parasitosis intestinal /Esprúe tropical. Sobrecrecimiento bacteriano. Linfoma /otros tumores /Sdr de Zollinger-Ellison. Tuberculosis intestinal. Pancreatitis crónica. Ingesta crónica de fármacos (anti H-2, IBP, metformina, etc). Defecto del receptor de ileon terminal (<i>Enfermedad de Immerslund</i>). Sdr de malabsorción alimentaria (SMA) ó <i>Síndrome de la no disociación de la Vitamina B12 de su proteína portadora</i> .
4. Alteraciones en el transporte plasmático
Déficit congénito de la Transcobalamina II. Déficit congénito de la Proteína R.
5. Alteraciones del metabolismo celular
Exposición al Oxido nítrico. Errores congénitos del metabolismo.
6. Aumento de las necesidades
VIH.

Abreviaturas: **Anti-H2:** Antagonistas de los receptores de la H2. **IBP:** Inhibidores de la bomba de protones. **Adaptado de:** Forrellat Barrios M. Vitamina B12: metabolismo y aspectos clínicos de su deficiencia. *Rev Cub Hem Inmunol Hemoter* 1999; 15 (3):159-174. Herrmann W. Causes and early diagnosis of vitamin B12 deficiency. *Dtsch Arztebl Int* 2008; 105 (40): 680-685. Scherier SL. Etiology and clinical manifestation of vitamin B12 and folic acid deficiency. *UptoDate* 2013. Hoffbrand AV. Chapter 105. Megaloblastic Anemia. *Harrison's Internal Medicine* 18th Ed.

Según varios estudios publicados las *causas más frecuentes* de déficit de Vitamina B12 en nuestro medio son el Síndrome de malabsorción alimentaria (SMA) (más del 60% de los casos) y la anemia perniciosa (AP), en el 15-20% los casos, mientras que la ingesta alimentaria insuficiente y otras causas de malabsorción así como las enfermedades hereditarias del metabolismo de la Cobalamina son menos frecuentes (inferiores al 5% y al 1%, respectivamente) (Matthews JH, 1995; Pautas E, 1999; Andrès E, 2000; Andrès E, 2003; Loukili NH, 2004; Dali-Youcef N, 2009; Bosco C, 2012; Kozyraki R, 2012).

Síndrome de malabsorción alimentaria (SMA):

En los últimos años el Síndrome de malabsorción alimentaria o *Síndrome de la no disociación de la Vitamina B12 de su proteína portadora* se ha identificado como primera causa de deficiencia de Vitamina B12 entre las personas de edad avanzada, dejando en un segundo lugar a la anemia perniciosa (Andrès E, 2004; Bosco C, 2012; Braillard O, 2012).

Este síndrome fue descrito por primera vez en el año 1995 por el Dr. Ralph Carmel (Carmel R, 1995). Se caracteriza por la incapacidad de la liberación de la Cobalamina de los alimentos ó de las proteínas de transporte intestinal, y en particular en presencia de hipoclorhidria, donde la absorción de la Cobalamina libre permanece normal (Andrès E, 2004).

Como muestran varios estudios el SMA queda definido por la deficiencia de Vitamina B12 sérica que no se explica por deficiencia dietaria con resultado del test de Schilling normal (Carmel R, 1995; Andrès E, 2003; Dali-Youcef N, 2009). Actualmente, dicho test está en desuso en la práctica clínica habitual (Carmel R, 2007; Cattán D, 2011; Nafil H, 2012) (**Tabla 4**).

Tabla 4. Criterios diagnósticos del Síndrome de malabsorción alimentaria (SMA).

1	<i>Nivel de Cobalamina sérica</i> <150 pmol/L.
2	Resultado de la <i>prueba estándar de Schilling</i> (con Cianocobalamina marcada con cobalto-58) <i>normal</i> , o el resultado de la prueba modificada de Schilling (utilizando el radiactivo de cobalamina unida a la proteína de los alimentos) <i>anormal</i> .
3	<i>No deficiencia dietaria de Cobalamina</i> (consumo > 2 µg por día).
4	La existencia de un <i>factor predisponente</i> de deficiencia cobalamínica: - Gastritis atrófica crónica e infección por <i>Helicobacter pylori</i>. - Sobrecrecimiento bacteriano gástrico ó intestinal: aclorhidria, Sdr de Ogilvie, VIH - Ingestión crónica de antiácidos (anti-H2 o inhibidores de la bomba de protones) ó biguanidas (metformina). - El alcoholismo crónico. - La gastrectomía ó cirugía de bypass gástrico. - Insuficiencia pancreática exocrina. - Idiopática (relacionada con la edad).

NOTA: Según varios autores, los 3 primeros criterios son necesarios para realizar el diagnóstico de SMA.
Fuente: Andrès E. Vitamin B12 (cobalamin) deficiency in elderly patients. CMAJ 2004; 171(3): 251-259.

Este síndrome está causado principalmente por una atrofia gástrica. Más del 40% de los pacientes mayores de 80 años tienen atrofia gástrica que puede o no estar relacionada con la infección por *Helicobacter pylori* (Pautas E, 1999; Carmel R, 2001).

Desde finales de los años 90, varios autores han demostrado que la infección por *H. Pylori* per se produce un déficit de Vitamina B12 (Kaptan K, 2000; Vitale G, 2011; Kozyraki R, 2013).

Otros factores que contribuyen al SMA son la proliferación microbiana intestinal (que puede ser causada p.e por el tratamiento con antibióticos); la ingestión a largo plazo de biguanidas como la metformina (Bauman WA, 2002; Andrès E, 2002) y antiácidos, incluyendo los antagonistas de los receptores H2 (Howden CW, 2000; Andrès E, 2003; Bosco C, 2012) y los inhibidores de la bomba de protones (especialmente en los pacientes con Síndrome de Zollinger-Ellison) (Valuck RJ, 2004; Hirschowitz BI, 2008), el alcoholismo crónico (Kaltenbach G, 1995; Herrmann W, 2008), la cirugía o reconstrucción gástrica (p.e, cirugía de bypass de la obesidad) (Provenzale D, 1992; Aarts EO, 2011; Schrier SL, 2012); la insuficiencia pancreática exocrina (Carmel R, 2000; Andrès E, 2003) y el Síndrome de Sjögren (Andrès E, 2001; Andrès E, 2006).

Anemia Perniciosa (AP):

La anemia perniciosa es una causa clásica de deficiencia Cobalamínica y constituye en la actualidad una de las causas más frecuentes entre los pacientes de edad avanzada: entre el 20 y 50% de los casos conforme a lo publicado en varios estudios (Pruthi RK, 1994; Lee GR, 1999; Bosco C, 2012; Andrès E, 2012) y mayor del 15% en dos series de pacientes franceses (Andrès E, 2002; Loukili NH, 2004). Incluso, según una revisión publicada en enero de 2013 la anemia perniciosa es la causa más frecuente de déficit grave de Vitamina B12 (Stabler SP, 2013).

Se trata de una enfermedad autoinmune que se caracteriza por la destrucción de la mucosa gástrica, especialmente de la mucosa fúndica. La respuesta inmune se dirige contra la H^+/K^+ ATPasa gástrica (Stabler SP, 2013), de tal forma que las secreciones gástricas son de neutras a ligeramente ácidas, incluso en presencia de gastrina (que normalmente aumenta la acidez) y contienen poco ó ningún factor intrínseco (Nicolas

JP, 1994; Toh BH, 1997; Toh BH, 2004; Andrés E, 2012), lo que conlleva a una malabsorción de la Vitamina B12 y ulterior deficiencia. En un estudio inglés, la prevalencia de la anemia perniciosa en los individuos mayores de 65 años fue del 2% (Clarke R, 2003) y en otro estudio realizado previamente la prevalencia fue del 2% en las mujeres y del 1% en hombres (Carmel R, 1996). Estudios posteriores, refieren una prevalencia del 0,9% en población general y del 2% en pacientes mayores de 65 años (García-Carrasco M, 2008; Andrès E, 2012). Dado su amplio espectro de manifestaciones clínicas, la anemia perniciosa es una “gran simuladora”. Su diagnóstico por lo tanto debe ser sospechado y considerado ante la presencia de manifestaciones neurológicas y hematológicas de origen indeterminado (Andrès E, 2012).

Biológicamente se caracteriza por la presencia de anticuerpos anti factor intrínseco (FI) en sangre. Su presencia es patognomónica de este tipo de anemia. Sin embargo, sólo el 70% de los pacientes con anemia perniciosa presentan estos anticuerpos (Hvas AM, 2006). Además, en función de las técnicas diagnósticas empleadas el rendimiento diagnóstico puede ser bajo. Así p.e con la técnica de inmunoensayo, la sensibilidad resulta ser baja para los anticuerpos anti FI, del orden del 37% en los estudios más recientes y hasta del 50% según otros autores (Andrès E, 2012), mientras que la especificidad es del 100%; para los anticuerpos anti-células parietales, la sensibilidad es del orden de 81,5%, mientras que la especificidad alcanza el 90,3%, aunque otros autores obtienen una sensibilidad del 50% y una especificidad de 0,98% (Andrès E, 2004; Loukili NH, 2004). La combinación de ambos anticuerpos para el diagnóstico de la anemia perniciosa tiene una sensibilidad del 73% y una especificidad de 100% (Lahner E, 2009).

La asociación con *enfermedades autoinmunes* como la diabetes tipo 1, la tiroiditis autoinmune (en particular, la tiroiditis de Hashimoto), o el vitiligo es frecuente (Perros P, 2000; Andrés E, 2005; Banka S, 2011; Stabler SP, 2013). Otras asociaciones también descritas son el síndrome de Sjögren, la enfermedad celíaca y la insuficiencia suprarrenal (enfermedad de Addison) (Andrés E, 2005). También se han documentado casos de síndrome autoinmune múltiple que incluyen entre sus hallazgos la presencia de la anemia perniciosa (Humbert P, 1988; Gaches F, 1993).

Además, En los últimos años se ha postulado sobre el posible papel potencial del *Helicobacter pylori* (HP) en la patogénesis de la gastritis autoinmune y la anemia perniciosa (Zittoun J, 2001; Toh BH, 2004). Sin embargo, hay resultados discordantes y no concluyentes sobre esta asociación (Alderuccio F, 2000; Andrès E, 2004; Stabler SP, 2013). No obstante, debe tenerse en cuenta que las pruebas serológicas para el HP pueden resultar negativas en etapas avanzadas de la anemia perniciosa, ya que el crecimiento de este organismo no es óptimo en un entorno alcalino, esto es en presencia de atrofia inmune asociada con aclorhidria (Andrès E, 2004).

Deficiencia nutricional:

Constituye una causa frecuente en países de menor desarrollo socioeconómico como Cuba, Venezuela, Perú, Kenia o India en los cuales la ingesta dietaria insuficiente de Vitamina B12 puede suponer la causa más frecuente de déficit (Arnaud J, 2001; Refsum H, 2001; Soberon M, 2004; Meertens L, 2005; McLean ED, 2007; Sukla KK, 2012).

Sin embargo, la deficiencia nutricional de Cobalamina es rara entre los adultos sanos de los países industrializados, incluso entre las personas de edad avanzada. Según la experiencia francesa esta causa supone menos del 5% de los casos (Andrès E, 2003; Dali-Youcef N, 2009), salvo en vegetarianos estrictos (Herrmann W, 2003; Borghoutti FF, 2009; Elmadfa I, 2009; Gilsing AM, 2010; Gammon CS, 2012), ancianos con dietas muy restrictivas o alteraciones muy importantes en la dentición que conlleven una baja ingesta de alimentos (Andrès E, 2004).

Ciertamente, se puede evidenciar esta deficiencia vitamínica de forma más frecuente en pacientes con dietas vegetarianas estrictas, entre los cuales el déficit puede presentarse hasta en el 50% de los individuos (Gilsing AM, 2010) y en personas ya desnutridas, tales como individuos muy mayores, pacientes institucionalizados en centros psiquiátricos o pacientes hospitalizados en los que se han objetivado prevalencias de deficiencia de Vitamina B12 de hasta el 60% (Russell RM, 1992; Herbert V, 1994; Iqbal MP, 2005). Los estudios sobre la ingesta dietética de personas de edad avanzada en los Estados Unidos han demostrado que hasta un 50% puede tener una ingesta

insuficiente de Cobalamina ($<2 \mu\text{g/día}$) (Russell RM, 1992). Este tipo de estudios, sin embargo, son extremadamente difíciles de realizar porque se basan principalmente en la historia dietética (Andrès E, 2000). Además, incluso si está presente, la deficiencia dietética no resulta sintomática hasta que las reservas hepáticas están agotadas.

Otras causas de déficit de Cobalamina:

Ya hemos mencionado que las resecciones parciales del estómago pueden condicionar un déficit de Cobalamina con relativa frecuencia. Esto puede deberse tanto a una disminución del ácido clorhídrico (HCl), pepsina y factor intrínseco secundarios a la resección como a la atrofia gástrica posterior del muñón o en relación a cuadros de sobrecrecimiento bacteriano (Oh R, 2003; Frank P, 2010).

Otro motivo frecuente en nuestro medio lo constituyen el grupo de enfermedades del ileon terminal como p.e la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) (Yacut M, 2010), la celiaquía en la que el porcentaje de déficit de Vitamina B12 puede alcanzar hasta el 41% (Dahele A, 2001), patología tumoral óo resecciones a este nivel (Coull DB, 2007). Otras causas muy infrecuentes en nuestro medio, pero que es obligado mencionar son la parasitosis intestinal por *Diphyllobotrium Latum* (Forrellat Barrios M, 1999; Baik HW, 1999; Stabler SP, 2004; Nielsen MJ, 2012; Kozyraki R, 2012) o el Síndrome de Immerslund-Grasbeck en el cual hay una alteración a nivel de los receptores específicos situados en el ileon terminal. En estos últimos, es característico la coexistencia de proteinuria (Forrellat Barrios M, 1999; Kozyraki R, 2012).

1.2.2 Epidemiología

1.2.2.1 Prevalencia

El déficit de la Vitamina B12 es frecuente en nuestro medio, y especialmente en la población mayor de 60 años. Dependiendo de los criterios diagnósticos empleados la prevalencia varía entre un 5 y un 40% (Carmel R, 2000; Wolters M, 2004; Dali-Youcef N, 2009; Lee-Guzman, 2011). Incluso en estudios recientes se observa una gran variabilidad en la prevalencia de esta carencia vitamínica que oscila entre el 7% de un estudio brasileño realizado en 500 pacientes ambulatorios (Xabier JM, 2010) y el 44,6% de una muestra de 838 pacientes ingresados en el H. Universitario Jordan de Amman

(Barghouti FF, 2009). Esta variabilidad puede explicarse por los diferentes puntos de corte empleados por los autores para definir el déficit de Vitamina B12 y las técnicas de laboratorio empleadas. Además de existir influencias alimentarias, sociales y/o genéticas de los individuos estudiados (Black AK, 1994; Miller JW, 2006; Fakhrzadeh H, 2006; Gil Prieto R, 2008; Chatthanawaree W, 2011; Laillou A, 2012).

Es de reseñar que esta carencia es más frecuente en población blanca y entre los latinos que en afroamericanos y asiáticos (Carmel R, 1999; Figlin E, 2003; Chatthanawaree W, 2011). En algunos estudios se ha constatado que el déficit de Cobalamina es más frecuente en los **varones** (Figlin E, 2003; Flicker LA, 2004; Fora MA, 2005; Johnson MA, 2010; Hinds HE, 2011) y que la prevalencia aumenta de forma progresiva con la **edad** (Nilsson-Ehle H, 1991; Wahlin A, 2002; Clarke R, 2004; Obeid R, 2004; Clarke R, 2007; Loikas S, 2007; Campbell AK, 2003; Allen LH, 2009; Johnson MA, 2010; Evatt ML, 2010; Lee-Guzman C, 2011) (**Tabla 5-6**), y especialmente en los pacientes mayores **hospitalizados** (Lindenbaum J, 1994; van Asselt DZ, 2000; Yüksel S, 2006).

Tabla 5. Prevalencia por edad de los niveles séricos de Vitamina B12 según el NHANES* (2001-2004).

Niveles Vitamina B12	9-13 años	14-18 años	19-30 años	31-50 años	≥ 51 años
≤150 pg/mL	0	0,2%	0,2%	0,5%	1,2%
151-200 pg/mL	0,1%	0,6%	1,5%	1,0%	2,0%
201-250 pg/mL	0,6%	2,5%	5,2%	6,1%	5,1%
251-300 pg/mL	1,6%	5,4%	7,9%	6,9%	6,2%
301-350 pg/mL	4,2%	9,4%	11,3%	10,7%	8,9%
351-400 pg/mL	5,4%	9,2%	13,1%	13,5%	10,7%
>400 pg/mL	88,0%	72,7%	60,8%	61,2%	65,8%

Fuente: Evatt ML. Vitamin B₁₂ deficiency: detection and diagnosis. Why vitamin B12 deficiency should be on your radar screen. Disponible en: www.cdc.gov/ncbddd/b12/detection.html.

Tabla 6. Prevalencia por edad de la deficiencia bioquímica de Vitamina B12 según el NHANES (2001-2004).

Edad (Años)	Vitamina B12 $\leq$ 200 pg/mL y AMM $\geq$ 270 nmol/L	Vitamina B12 $>$ 200 pg/mL y AMM $\geq$ 270 nmol/L
9-13 años	0,1%	2,5%
14-18 años	0,2%	3,7%
19-30 años	0,4%	3,5%
31-50 años	0,6%	3,6%
$\geq$ 51 años	1,6%	7,9%

* **NHANES:** National Health and Nutrition Examination Survey.

** Bioquímicamente el déficit sérico de Vitamina B12 se define por: niveles séricos de Vitamina B12 $\leq$ 200 pg/mL y Acido Metil-malónico (AMM) $\geq$ 270 nmol/L o niveles séricos de Vitamina B12 $>$ 200 pg/mL y AMM $\geq$ 270 nmol/L.

Fuente: Evatt ML. Vitamin B₁₂ deficiency: detection and diagnosis. Why vitamin B12 deficiency should be on your radar screen. Disponible en: www.cdc.gov/ncbddd/b12/detection.html.

1.2.2.2 Mortalidad

No se ha demostrado que los niveles bajos de Vitamina B12 estén directamente relacionados con aumento de la mortalidad. Al contrario, se ha observado que niveles más altos de Vitamina B12 se asocian con mayor mortalidad (Geissbühler P, 2000; Hemmersbach-Miller M, 2005). Así Geissbühler en un estudio de 161 pacientes con cáncer demostró que un nivel elevado de Vitamina B12 en sangre constituye un factor predictor de mortalidad independiente en pacientes con cáncer avanzado (Geissbühler P, 2000). Otro estudio realizado en nuestro hospital, sobre 366 pacientes nonagenarios que ingresaron por cualquier motivo y a los que se determinaron los niveles séricos de Cbl, evidenciaron cifras significativamente más elevadas de Vitamina B12 sérica entre los pacientes que fallecieron, incluso después de excluir a los pacientes que padecían un proceso tumoral (Hemmersbach-Miller M, 2005).

Otros estudios, sin embargo, aseveran que no está claro si los niveles séricos de Vitamina B12 se relaciona directamente con la mortalidad o constituyen un marcador de mal pronóstico. Se propone en ese mismo trabajo la realización de más estudios para aclarar este respecto (Tal S, 2010).

1.2.2.3 Medidas preventivas

En 1996, se introdujeron en los EE.UU los productos de granos de cereal fortificados con ácido fólico y desde 1998, esta fortificación se hizo obligatoria. Esta medida consiguió reducir el número de defectos del tubo neural a la mitad, sin embargo ha tenido poco impacto sobre la mortalidad cardiovascular (Robertson J, 2005).

Desde que la fortificación de harina con ácido fólico se ha generalizado, la Vitamina B12 constituye un importante determinante del aumento de los niveles de homocisteína en plasma (Hcy). En una revisión publicada en este año 2013 se concluye que el déficit de Vitamina B12 es por este motivo la causa más frecuente de hiperhomocisteinemia (Hhcy) (Stabler SP, 2013). Además este hecho, contribuye a enmascarar e incluso agravar el déficit clínico y bioquímico de Cobalamina (Aguirre Errasti C, 2001, Morris MS, 2007; Selhub J, 2009; Bryan RH, 2010; Bailey RL, 2011; Hughes CF, 2013). Dada la alta prevalencia del déficit de Vitamina B12 a nivel mundial y especialmente en las personas mayores varios autores han planteado la posibilidad de considerar la fortificación de harina y/o otros alimentos con Vitamina B12 (Fora MA, 2005; Fakhrzadeh H, 2006; Carmel R, 2008; Green R, 2009; Stover PJ, 2010). En una revisión reciente Carmel considera en base a la evidencia científica que la fortificación de alimentos con Vitamina B12 es racional, eficaz y segura (Carmel R, 2011). De hecho en EE.UU la fortificación de cereales con Vitamina B12 se considera una fuente de alimentación de esta vitamina muy importante entre las personas mayores. Algunos autores concluyen que mientras no se establezca la obligatoriedad de fortificar la harina con Cbl en Europa la deficiencia de Vitamina B12 seguirá siendo frecuente (Godfrey PO, 2010).

1.2.3 Fases y etapas del déficit de la Vitamina B12

Se ha estimado que hay un retraso de 5 a 10 años entre el inicio de la deficiencia de Cobalamina y la aparición de manifestaciones clínicas. Esto ocurre en parte por la existencia de importantes depósitos hepáticos (>1,5 mg) y la circulación enterohepática (Carmel R, 2000; Dali-Youcef N, 2009; Scott JM, 2012).

Ya Herbert propuso en los años 90 diferenciar cuatro estadios ó fases del déficit de Vitamina B12 (Herbert V, 1994). De forma que en los estadios iniciales I o II los pacientes suelen encontrarse asintomáticos mientras que los pacientes en estadio III o IV ya tienen síntomas y signos relacionados con la deficiencia de esta vitamina (**Tabla 7**).

Otros trabajos como el de Pérez y su grupo hacen referencia a las distintas etapas que se pueden evidenciar en la deficiencia de Cobalamina (Pérez V, 2005) (**Tabla 8**).

Tabla 7. Fases del déficit de Vitamina B12 según Herbert.

	Manifestación	Comentarios
I	Depleción de los niveles séricos circulantes de Vitamina B12	Típicamente asintomáticos. Pueden permanecer así durante años.
II	Depleción de los depósitos celulares de Vitamina B12	Pueden estar asintomáticos y permanecer así durante años.
III	Evidencia bioquímica del déficit (↑AMM y ↑Hcy)	La Vitamina B12 es necesaria para la conversión de estos compuestos.
IV	Signos y síntomas clínicos de deficiencia de Vitamina B12	El espectro de manifestaciones clínicas es amplio y la secuencia de desarrollo de los síntomas varía de forma notable.

Fuente: Herbert V. Vitamin B-12 and elderly people. Am J Clin Nutr 1994; 59 (5):1093-1095.

Tabla 8. Etapas de la deficiencia de Vitamina B12.

Indicador	Normal	Deplección VB12	DVB12 funcional temprana	Anemia por DVB12
AMM	N	¿?	↑	↑
Hcy	N	↑	↑↑	↑↑
B12 sérica	N	↓	↓	↓↓
Eritrocitos	N	N	N	Anemia macrocítica
Otros	N	N	N	Hipersegmentación núcleos neutrófilos

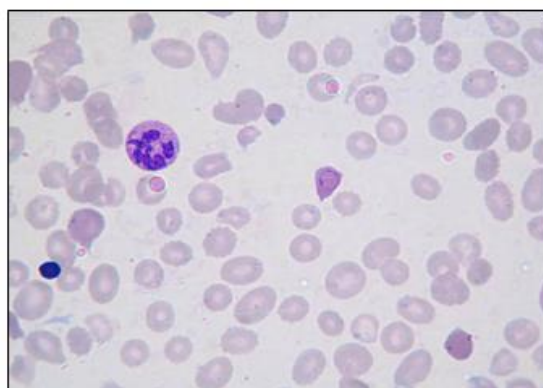
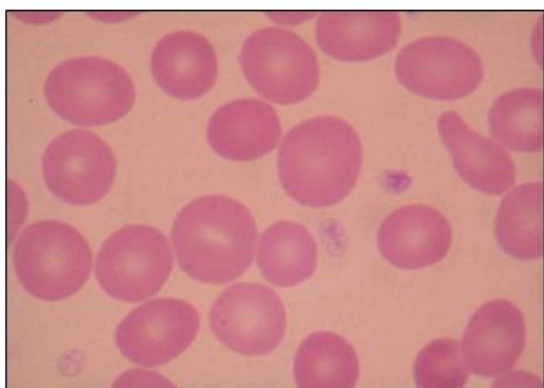
Abreviaturas: **VB12:** Vitamina B12. **DVB12:** Déficit de Vitamina B12. **AMM:** Acido metilmalónico. **Hcy:** homocisteína. **N:** Normal.

Fuente: Pérez V, Hertramp E, Olivares M. Folato y Vitamina B12 en pediatría: Mirada actual. Rev Ped Elec (en linea) 2005; 2 (2): 44-52.

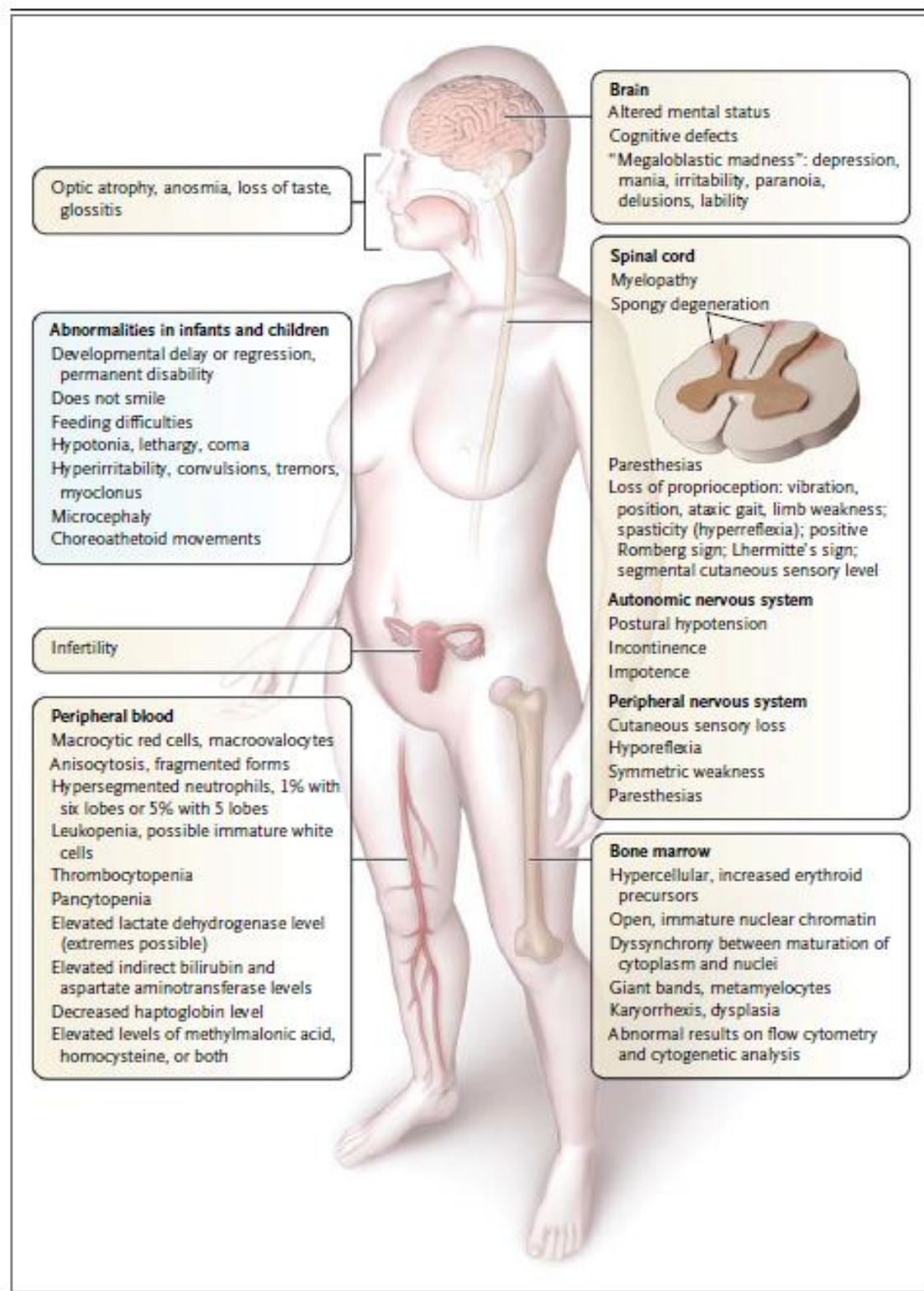
1.2.4 Consecuencias del déficit de Vitamina B12

Las *alteraciones hematológicas y neuropsiquiátricas* son las manifestaciones clínicas más frecuentes (Andrès E, 2004; Andrès E, 2012; Stabler SP, 2013). Sin embargo con frecuencia no están presentes. Según Lechner, aunque la prevalencia del déficit de Vitamina B12 es frecuente, sólo el 5-10% de los pacientes son sintomáticos (Lechner K, 2005).

Las principales manifestaciones clínicas son muy heterogéneas y de gravedad variable; van desde condiciones más leves, como la neuropatía sensorial común y/o anomalías aisladas como la macrocitosis y la hipersegmentación de los neutrófilos, a trastornos graves, incluida la esclerosis combinada de la médula espinal, anemia hemolítica e incluso la pancitopenia (Carmel R, 2000; Andrès E, 2003; Chatthanawaree W, 2011; Andrès E, 2012; Iqtidar N, 2012; Stabler SP, 2013).



Fuente: www.telmeds.org/atlas/hematologia/serie-roja/anomalias-de-tamanoanisocitosis/macrocitos/;
www.basesmedicina.cl/hematologia/15_3_anemia_mega/contenidos.htm



Fuente: Stabler SP. Vitamin B12 deficiency. *N Engl J Med* 2013; 368:149-160.

1.2.4.1 Manifestaciones hematológicas

Las principales manifestaciones se muestran en la siguiente tabla (Andrès E, 2012).
(Tabla 9).

Tabla 9. Manifestaciones hematológicas de la deficiencia de Vitamina B12.

Comunes: • Macrocitosis. • Hipersegmentacion de neutrófilos. • Anemia megaloblástica.
Raras: • Trombocitopenia y neutropenia aislada. • Pancitopenia.
Infrecuentes: • Anemia hemolítica. • Microangiopatía pseudotrombótica.

Adaptado de: Andrès E. Update of nutrient-deficient anemia. Conn's Current Therapy 2012, pp 840-841.

Anemia perniciosa (AP)

Ya referida previamente, la *anemia perniciosa* ó *anemia de Biermer (AP)*, debe su nombre a Thomas Addison quien en 1850 describe una anemia letal, de ahí el nombre de “perniciosa” relacionada con la atrofia gástrica (García-Carrasco M, 2008; Scott JM, 2012).

En 1926, Georges Richard Minot y William Parry Murphy comunican la curación de 45 pacientes con anemia perniciosa tomando grandes cantidades de hígado crudo. En 1934, reciben el Premio Nobel de Medicina por descubrir el “Factor extrínseco”. En 1929, William Castle descubre el Factor Intrínseco (Herrmann W, 2008; Scott JM, 2012).

En la actualidad sabemos que es una anemia megaloblástica secundaria a la deficiencia de Vitamina B12 y que se desarrolla como resultado de la carencia del factor intrínseco en el estómago que conduce a la malabsorción de dicha vitamina (Scott JM, 2012).

Según diversos estudios, se presenta entre el 1,9 al 4% de los pacientes mayores de 60 años (Stabler SP, 2013). Típicamente es una anemia con un aumento del volumen corpuscular medio (VCM) y unos reticulocitos disminuídos (De Paz R, 2006). El frotis de sangre periférica presenta una notable anisocitosis y poiquilocitosis además de macroovalocitos (Carmel R, 1988; Andrès E, 2007; Andrès E, 2012).

Una característica importante es la existencia de neutrófilos con polisegmentación del núcleo, con seis lóbulos ó más. La médula ósea es hiper celular. También se puede afectar la serie blanca (Andrès E, 2012).

La *anemia* resulta del deterioro en la síntesis del ADN debido a un bloqueo interno en la biosíntesis de purina y timidina. El bloqueo en la biosíntesis del nucleótido es una consecuencia del efecto de la Vitamina B12 en el metabolismo del folato. Cuando la Vitamina B12 es deficiente todo el folato es atrapado como derivado del N^5 -metilTHF, resultado de la pérdida de la Metionina sintasa (MS) funcional. Esta captura previene la síntesis de otros derivados de la Tetrahidrofolato (THF) requeridos para la vía de la biosíntesis del nucleótido de la purina y de timidina (Carmel R, 2003; De Paz R, 2006).

1.2.4.2 Manifestaciones neuro-psiquiátricas

Las *complicaciones neurológicas* asociadas a la deficiencia de Vitamina B12 fueron descritas por primera vez por Russel a principios del siglo XX (Schilling RF, 1986). Estas manifestaciones resultan de una desmielinización progresiva de los nervios periféricos de las columnas laterales y posteriores de la médula.

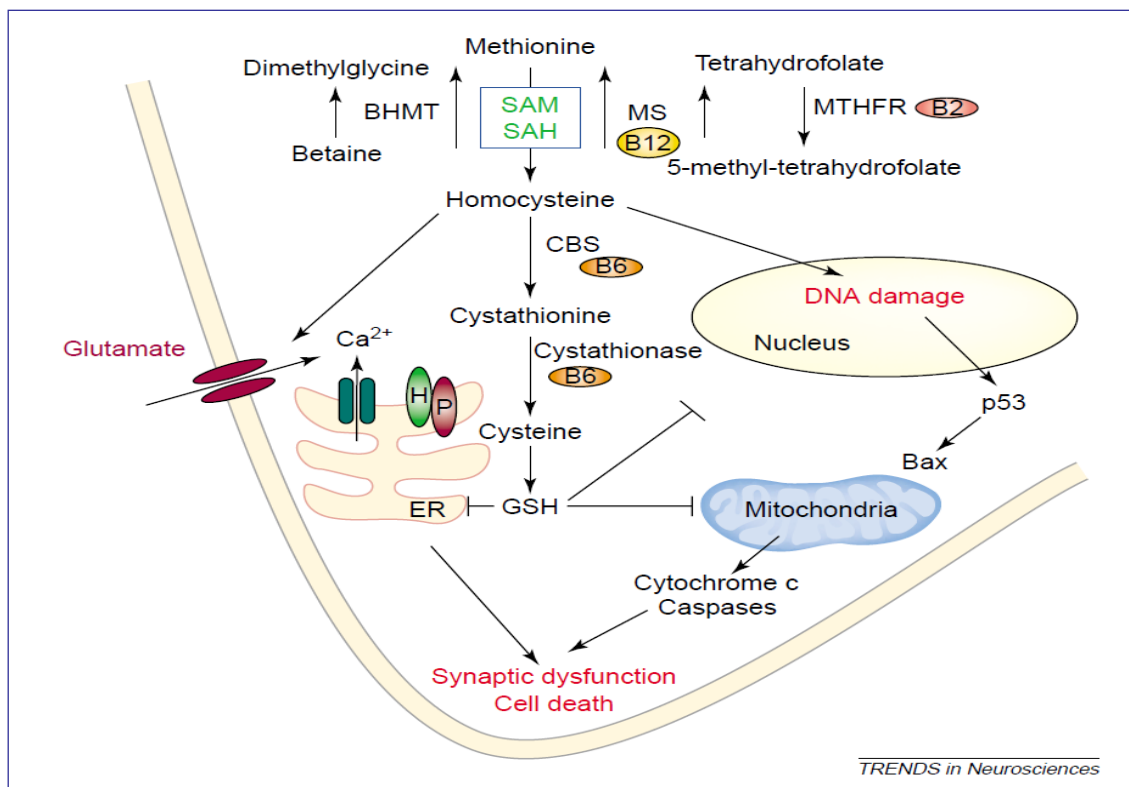
Se han sugerido distintos mecanismos para explicar la desmielinización: la alteración de la actividad de la metioninasintasa y/o mutasa metilmalonilCoA; acumulación de los análogos de la Vitamina B12; anomalías concurrentes en el metabolismo del folato o estado nutricional, y alteraciones en la regulación de citoquinas y del factor de crecimiento (Solomon LR, 2007). Clásicamente se ha apuntado el aumento de la Metilmalonil-CoA como base patógena para explicar las alteraciones neurólogicas derivadas del déficit de Vitamina B12 (Snow CF, 1999; Dharmarajan TS, 2003).

La Metilmalonil-CoA es un inhibidor competitivo del Malonil-CoA en la biosíntesis de ácidos grasos así como es capaz de sustituir al Malonil-CoA en cualquier biosíntesis de ácidos grasos que pueda ocurrir. Dado que la vaina de mielina está sujeta a un recambio constante, cualquier inhibición grave de la biosíntesis de ácidos grasos dará lugar a su degeneración final (Hernández Rodríguez M, 1999). De hecho la incorporación de Metilmalonil-CoA en la biosíntesis de ácidos grasos da lugar a ácidos grasos de cadenas

ramificadas que pueden alterar seriamente la arquitectura de la estructura normal de la membrana de las células nerviosas (Snow CF, 1999).

La homocisteína puede causar disfunción sináptica y la muerte neuronal mediante la promoción de daño en el ADN celular y la activación de cascadas de señalización apoptóticas que incluyen el p53, Bax, alteraciones mitocondriales, la liberación del citocromo C y la activación de caspasas (Mattson MP, 2003); por otro lado es bien conocido el papel neurotóxico de la hiperhomocisteinemia a través de la sobreestimulación de los receptores de la N-metil-D-aspartato (NMDA), provocando un aumento del flujo de calcio hacia el interior de las células nerviosas provocando la muerte neuronal (Lipton SA, 1997; Bjelland I, 2003; Lachner C, 2012). Por último, la homocisteína induce estrés sobre el retículo endoplasmático, lo cual podría contribuir a sus acciones patógenas (Kruman II, 2000; Ho PI, 2002; Mattson MP, 2003) (**Figura 7**).

Figura 7. Papel de la homocisteína en la muerte neuronal.



Fuente: Mattson MP. Folate and homocysteine metabolism in neural plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neuro* 2003; 26(3):137-146.

Una forma frecuente de presentación clínica y de inicio en los pacientes con deficiencia de Vitamina B12 son las *parestesias* en ambas extremidades inferiores que ascienden de manera progresiva. Frecuentemente, se sigue de debilidad en ambas piernas e inestabilidad de la marcha (McCaddon A, 2013; Stabler SP, 2013). La afección de la médula se conoce como *degeneración combinada subaguda* que ocurre aproximadamente en un 10% de los casos (Nogales-Gaete J, 2004; Scalabrino G, 2005).

Los *trastornos neuropsiquiátricos* también se observan con frecuencia como consecuencia de este déficit, resultando en ocasiones la primera y única manifestación. Se pueden constatar casos de demencia, síndromes amnésicos, depresión, manía, alucinaciones, trastornos de la personalidad y síntomas psiquiátricos variados (Healton EB, 1991; Errasti Aguirre C, 2001; Moretti R, 2004; Dimopoulos N, 2006; Dimopoulos N, 2007; Tripathi AK, 2010; Blundo C, 2011; Dogan M, 2012). La incidencia de estos síntomas entre los pacientes con déficit varía entre el 4 y el 50% (Goebels N, 2000; Lachner C, 2012). El diagnóstico diferencial no es nada sencillo, dada la pluripatología y polimedicación de los pacientes con edad avanzada (Andrès E, 2005).

Entre los pacientes con déficit de Vitamina B12 se ha observado un mayor riesgo de padecer demencia tipo Alzheimer (Wang HX, 2001; McCaddon A, 2001; Whyte EM, 2002; Refsum H, 2004; Lachner C, 2012). Se ha intentado implicar a los análogos directos de la Cobalamina para explicar esta circunstancia; sin embargo, estudios realizados con animales no corroboran esta teoría (Troem AM, 2005).

La lista de disfunciones neurológicas es larga y puede incluir desde la disfunción vesical, impotencia, hipotensión ortostática hasta disturbios visuales que pueden incluir la pérdida de agudeza visual y de la visión de colores (Forrellat Barrios M, 1999; Stabler SP, 2013). Los reflejos pueden estar atenuados o exaltados. Los signos de Romberg y Babinski pueden ser positivos (Iqtidar N, 2012; Martínez-Estrada KM, 2013).

1.2.4.3 Otras manifestaciones

El déficit de Vitamina B12 también afecta a otros tejidos como la mucosa intestinal y genitourinaria, observándose casos de glositis (glositis de Hunter) y malabsorción por este motivo (Andrès E, 2012; Braillard O, 2012; Stabler SP, 2013) (**Tabla 10**).

En los últimos años, también se ha relacionado los niveles bajos de Vitamina B12 con osteoporosis y mayor riesgo de fractura de cadera (Dhonukshe-Rutten RA, 2003; Stone KL, 2004; Tucker KL, 2005). Asimismo, se ha observado un aumento de incidencia de tuberculosis en vegetarianos estrictos y respuesta anómala a la vacuna del neumococo en pacientes de edad avanzada con niveles bajos de Cbl, sugiriéndose un papel inmunitario a la Vitamina B12 (Kubota K, 1992; Fata FT, 1996; Tamura J, 1999). También la infertilidad femenina y masculina se ha relacionado con la deficiencia de Vitamina B12 (Gulden KD, 1990; Bennett M, 2001; Yüksel S, 2006; Pront R, 2009; Stabler SP, 2013).

Tabla 10. Signos, síntomas y situaciones sugerentes de déficit de Vitamina B12.

Neuropsiquiátricas	Digestivas
Comunes: • Polineuritis (especialmente sensitiva). • Ataxia. • Signo de Babinski.	Clásicas: • Glositis de Hunter. • Ictericia. • Elevación de bilirrubina y LDH.
Clásicas: • Esclerosis combinada de la médula.	Detectable: • Dolor abdominal. • Dispepsia. • Náuseas y vómitos. • Diarrea. • Trastornos de la función intestinal.
Raras: • Síndromes cerebelosos con afectación de nervios craneales. • Neuritis óptica y atrofia óptica. • Incontinencia urinaria. • Incontinencia fecal.	Raras: • Persistencia y recurrencia de úlceras cutáneas.
En estudio: • Deterioro de funciones cognitivas superiores. • Aterosclerosis e ictus. (hiperhomocisteinemia) • Parkinsonismo. • Depresión. • Esclerosis múltiple.	En estudio: • Atrofia de la mucosa vaginal. • Infecciones urinarias especialmente micosis. • TVP. • Angina (hiperhomocisteinemia).

Abreviaturas: **LDH:** Lactato deshidrogenasa. **TVP:** Trombosis venosa profunda. **Adaptado de:** Andr  s E. Update of nutrient-deficient anemia. Conn's Current Therapy 2012, pp 840-841. Braillard O. Hypovitaminose B12: quoi de neuf ?. Rev Med Suisse 2012; 8: 1805-1810.

1.2.5 Diagnóstico del déficit de Vitamina B12

La *deficiencia de Vitamina B12* es un problema de salud pública mundial. Sin embargo, no existe consenso en cuanto a su diagnóstico (Snow CF, 1999; Aguirre Errasti C, 2002; Green R, 2005; Hvas AM, 2006; Solomon LR, 2007; Evatt ML, 2010; Langan RC, 2011; Iqtidar N, 2012; Hughes CF, 2013).

No obstante, se han elaborado algoritmos diagnósticos en este sentido teniendo en cuenta evitar procedimientos cruentos y exploraciones innecesarias tales como el mielograma, aunque en algunos casos resulta necesario para descartar hemopatías. (Andrès E, 2004)

Varios autores coinciden en la existencia de grupos de riesgo en los que deberían ser medidos los niveles séricos de Vitamina B12: pacientes mayores de 65 años malnutridos, institucionalizados o ingresados en hospitales psiquiátricos así como en aquellos con manifestaciones hematológicas y neuropsiquiátricas sugestivas de deficiencia de Vitamina B12 (Andrès E, 2004; Evatt ML, 2010; Chatthanawaree W, 2011; Braillard O, 2012) (**Tabla 11**).

Tabla 11. Factores de riesgo para presentar un déficit de Vitamina B12.

Disminución de la absorción ileal
• Enfermedad de Crohn. • Resección ileal. • Sobrecrecimiento bacteriano.
Disminución de los niveles de F. Intrínseco
• Gastritis atrófica. • Anemia perniciosa. • Síndrome postgastrectomía.
Factores genéticos
• Deficiencia de Transcobalamina II.
Disminución de la ingesta
• Personas mayores. • Institucionalizados/ ingresados. • Vegetarianos.
Uso prolongado de medicación
• Metformina. • Inhibidores de la bomba de protones. • Anti-H2 (Ranitidina).

Adaptado de: Langan RC. Update on Vitamin B12 Deficiency. *Am Fam Physician* 2011; 83 (12):1425-1430.

1.2.5.1 Definición/es del déficit de Vitamina B12

Los trabajos publicados en los últimos 15 años han proporcionado varias definiciones de deficiencia de Cobalamina, con diferentes puntos de corte de los niveles séricos de la Vitamina B12. Estas variaciones se podrían explicar por las diferentes poblaciones estudiadas y kits diagnósticos utilizados (Snow CF, 1999; Zittoun J, 1999; Klee GG, 2000; Hughes CF, 2013).

Las diferentes sensibilidades y especificidades de estos tests han llevado a que a día de hoy no dispongamos de un test único y definitivo para el diagnóstico de la deficiencia de Vitamina B12, especialmente en pacientes de edad avanzada (Braillard O, 2012; Hughes CF, 2013). En la actualidad, esta deficiencia se definen a menudo por la determinación de niveles séricos disminuídos de Cobalamina (<150 pmol /L o <200 pg /mL) (Snow CF, 1999; Langan RC, 2011; Iqtidar N, 2012) coexistiendo con la elevación de los niveles plasmáticos de homocisteína (>13 μ mol/L) y acido metilmalónico ($>0,4$ mmol/L), dos componentes de la vía metabólica de la Cobalamina (Dali-Youcef N, 2009).

Andrès y su grupo compararon pacientes con déficit de Vitamina B12 y pacientes controles emparejados por edad y sin complicaciones para determinar los puntos de corte de los niveles de Cobalamina sérica. Basándose también en parte del trabajo de Klee y su grupo (Klee GG, 2000) establecieron las siguientes definiciones de diagnóstico de deficiencia de Cobalamina para los pacientes de edad avanzada (**Tabla 12**).

La primera definición es más fácil de realizar e interpretar, pero requiere que las muestras de sangre se extraigan en 2 días separados (Andrès E, 2004).

Tabla 12. Definiciones de la deficiencia de Vitamina B12 en las personas de edad avanzada.

• Nivel de Cobalamina sérica <150 pmol/L en 2 ocasiones separadas.
• Nivel de Cobalamina sérica <150 pmol/L y nivel total de homocisteína sérica >13 μ mol/L o ácido metilmalónico $>0,4\mu$ mol/L (en ausencia de insuficiencia renal y deficiencia de ácido fólico y Vitamina B6)

Fuente: Andrès E. Vitamin B12 deficiency in the elderly. CMAJ 2004; 171 (3):251-259.

1.2.5.2 Determinación sérica de los niveles de Vitamina B12

Clásicamente el diagnóstico del déficit de Vitamina B12 se ha basado en la determinación plasmática de la misma, circunstancia que se ha venido realizando desde los años 50. De forma habitual el diagnóstico se ha establecido por niveles bajos de Vitamina B12 séricos, generalmente por debajo de 200 pg/mL junto con la evidencia clínica de enfermedad (Snow CF, 1999; Oh R, 2003; Allen LH, 2009; Langan RC, 2011).

Recientemente, en un informe de la Organización Mundial de la Salud (OMS) se recomienda la cifra de 200 pg/mL como punto de corte sugestivo de deficiencia de Vitamina B12 (Walker PF, 2011). Este mismo límite también ha sido sugerido por otros autores (Snow CF, 1999; Gielchinsky Y, 2001; Goland S, 2003; Allen LH, 2004; Evatt ML, 2010; Langan RC, 2011; Bosco C, 2012).

Sin embargo, es bien conocido que únicamente la determinación de los niveles de Vitamina B12 en plasma es poco sensible dependiendo de los puntos de corte que se consideren (Aguirre Errasti C, 2002; Refsum H, 2004; Evatt ML, 2010; Langan LC, 2011; Carmel R, 2011; Boulat O, 2012; Braillard O, 2012; Berg RL, 2013). Así en 1994, Matchar estableció que el valor predictivo positivo de esta prueba era de tan sólo un 22% (Matchar DB, 1994). No obstante, Clarke comunica una mayor sensibilidad y especificidad (del 75,7% y 72,4%, respectivamente) cuando el punto de corte se establece en 200 pmol/L, esto es por encima de 250 pg/mL (Clarke R, 2007).

A pesar de la sensibilidad moderada de la determinación de la Cobalamina (64-85% según el punto de corte), se utiliza comúnmente en el ámbito clínico debido a su bajo costo y disponibilidad en la mayoría de los centros. Sin embargo, su especificidad es elevada (84%) (Braillard O, 2012) (**Tabla 13**).

Tabla 13. Sensibilidad y especificidad de la Vitamina B12 vs Holotranscobalamina.

Determinación sérica	Punto de corte	Sensibilidad	Especificidad
Vitamina B12	145 pmol/L	53%	84%
Vitamina B12	180 pmol/L	64%	64%
HoloTC	32 pmol/L	83%	60%
HoloTC	21 pmol/L	64%	88%

Abreviatura : HoloTC : Holotranscobalamina

Adaptado de: Braillard O. Hypovitaminose B12 : quoi de neuf ? Rev Med Suisse 2012; 8: 1805-1810.

Así según Lechner, la determinación sérica de Cobalamina es el mejor test diagnóstico de inicio, pero los resultados deben ser interpretados con cautela, puesto que un nivel normal no excluye la deficiencia (Lechner K, 2005).

De tal forma que marcadores de la actividad de la Cobalamina, tales como la Hcy sérica y/o el ácido metilmalónico pueden ser útiles en esta situación (Aguirre Errasti C, 2001; Lechner K, 2005; Schneede J, 2005; Willis CD, 2011; Chatthanawaree W, 2011). No obstante, algunos investigadores concluyen que únicamente la determinación de niveles séricos por debajo de 150 pmol/L constituye ya una alta probabilidad de padecer una deficiencia de Vitamina B12 (Miller JW, 2006; Langan RC, 2011; Braillard O, 2012) (Tabla 14).

Tabla 14. Puntos de corte aceptados para definir el déficit de Vitamina B12.

Cifras de Vitamina B12	Conclusión diagnóstica
>300 pmol/L	Déficit improbable
150-300 pmol/L	Zona gris o borderline
<150 pmol/L	Déficit muy probable

Equivalencia: 150 pmol/L = 200 pg/mL.

Adaptado de: Braillard O. Hypovitaminose B12: quoi de neuf ? Rev Med Suisse 2012; 8: 1805-1810.

Si sólo se tiene en cuenta este criterio como diagnóstico de déficit de Vitamina B12 en las personas mayores puede haber errores (Aguirre Errasti C, 2001; Solomon LR, 2007; Palacios G, 2013) (Tabla 15).

Tabla 15. Determinantes de los niveles séricos de Vitamina B12 en ancianos.

Valores bajos “falsos”	Valores normales/altos “falsos”
• Deficiencia de folato. • Mieloma múltiple. • Infección por VIH. • Bajos niveles de haptocorrina.	• Niveles altos de haptocorrina: .- Trastornos mieloproliferativos. .- Enfermedad renal. • Liberación incrementada a los tejidos: .- Enfermedad hepática. • Baja/ausencia de Transcobalamina. • Baja afinidad de los polimorfismos de la TC. • Trastornos hereditarios del metab. de la Cbl. • Terapia reciente con Cbl. • Análogos de la Cbl: .- Terapia con Oxido nítrico. .- Altas dosis de vitamina C. .- Sobrecrecimiento bacteriano. • Errores en los test diagnósticos.

Abreviaturas: TC: Transcobalamina. **Metab:** Metabolismo. **Cbl:** Cobalamina.

Adaptado de: Solomon LR. Disorders of cobalamin (vitamin B12) metabolism: emerging concepts in pathophysiology, diagnosis and treatment. *Blood Rev* 2007; 21 (3):113-130.

1.2.5.3 Otros biomarcadores

Homocisteína (Hcy) y Acido Metilmalónico (AMM)

La carencia en los tejidos de la Cobalamina altera el funcionamiento de las dos reacciones fundamentales que ya hemos comentado con anterioridad (**Figura 5**), la desmetilación de la homocisteína a metionina y la isomerización de Metilmalónico CoA a SuccinilCoA, lo que se traduce en una elevación de los niveles de ácido metilmalónico (AMM) en sangre y/u orina y elevación de homocisteína en sangre que se normalizan tras la suplementación de Vitamina B12 (Wiersinga WJ, 2005; Mazokopakis EE, 2012; Stabler P, 2013).

La elevación del AAM en sangre y/u orina y la hiperhomocisteinemia son consideradas por algunos autores como el “patrón de oro” para el diagnóstico tisular del déficit de Vitamina B12. De hecho se considera que si la los niveles de AMM y homocisteína están dentro de los valores normales se puede descartar casi con toda probabilidad que nos encontremos ante un caso de déficit de Cobalamina (Allen RH, 1990; Lindenbaum J, 1990; Savage DG, 1994; Aguirre Errasti C, 2001; Chatthanawaree W, 2011; Stabler SP, 2013).

Ya en 1992 Pennipacker describió que si se aceptaba el aumento de los niveles de homocisteína y de ácido metilmalónico así como su normalización tras tratamiento sustitutivo como criterios diagnósticos de déficit de Vitamina B12, aproximadamente la mitad de los pacientes tenían niveles de Vitamina B12 por encima de 200 pg/mL (Pennypacker LC, 1992).

Otros estudios encontraron hallazgos similares, sugiriéndose que se podía producir un importante infradiagnóstico, del 10 al 26% si sólo se tenían en cuenta para el diagnóstico los niveles séricos bajos de Vitamina B12 (Stabler SP, 1995). En 1994 en un importante estudio longitudinal de 406 pacientes con déficit de Vitamina B12, se constataba que el 98,4% presentaba niveles elevados de AMM y un 95,9% hiperhomocisteinemia (Savage DG, 1994).

Lindenbaum estableció que la determinación combinada de ambos suponía una sensibilidad del 99,8% (Lindenbaum J, 1994). Por su parte, Klee en una revisión exhaustiva repasa varios trabajos que reconocen de igual forma que las variaciones al alza de ambos marcadores son muy sensibles y específicos de la deficiencia funcional de la Vitamina B12 (Klee GG, 2000). Estudios más recientes apuntan también en esta dirección (Brito A, 2012; Boulat O, 2012; Stabler SP, 2013; Herrmann W, 2013). No obstante, los puntos de corte de ambos metabolitos para definir una posible deficiencia de Vitamina B12 aún no están bien definidos (Valente E, 2011).

Así en el estudio de Bailey et al. se analizó una serie de más de 12.600 individuos americanos. Entre los individuos que presentaban niveles de Vitamina B12 por debajo de 200 pg/mL, sólo del 22 al 44% de los mismos tenían concentraciones elevadas de AMM (dependiendo del punto de corte), y sólo el 32% tenían concentraciones elevadas de Hcy en plasma (Bailey RL, 2011). Igualmente, Campbell comunicó un incremento de los niveles de AMM en plasma (<350 nmol/L) y de Hcy en plasma (>13 μ mol/L) en el 46% y en el 51% de los pacientes con niveles bajos de Vitamina B12 en plasma (<200 pg/mL), respectivamente (Campbell AK, 2003).

Por tanto, en los últimos años la investigación de esta deficiencia ha venido liderada por la determinación de estos biomarcadores que se han consolidado como marcadores más sensibles, además de más precoces para determinar un estado de deficiencia de

Cobalamina (Hvas AM, 2006; Braillard O, 2012). No obstante y aún cuando la determinación de AMM en suero puede tener un lugar en los algoritmos diagnósticos propuestos en varios trabajos (Berg RL, 2013), este indicador de insuficiencia cobalamínica se encuentra falsamente elevado en los casos de deterioro de la función renal (Schneede J, 2005), circunstancia que ocurre frecuentemente en los pacientes añosos. Además, por otra parte, hay estudios que informan que los niveles séricos de AMM se encuentran con frecuencia elevados como se reporta en un estudio de pacientes mayores realizado en el Norte de los EE.UU (Morris MS, 2002).

También es bien conocido el aumento de las cifras de homocisteína con el aumento de la edad. Así en un estudio reciente español con 167 pacientes institucionalizados se objetivaron cifras elevadas de Hcy en 100 individuos (66% de la muestra), mientras que el déficit de Vitamina B12 se evidenció sólo en 18 (11%) (Albers U, 2012).

De todo ello se deduce que tanto la determinación de los niveles de homocisteína como de AMM no ha sido completamente validada como examen clínico de rutina de la deficiencia de Cobalamina. Además de tratarse de una prueba cara y la no disponibilidad en todos los centros, se suma la posibilidad de falsos positivos (Ray JG, 2005; Langan RC, 2011; Willis CD, 2011; Chatthanawaree W, 2011) (**Tabla 16**). Hay que advertir que para el diagnóstico de déficit de la Vitamina B12 la elevación del AMM es mucho más específica que la hiperhomocisteinemia (Oh R, 2003; Langan RC, 2011; Chatthanawaree W, 2011; Stabler SP, 2013).

Tabla 16. Causas de falsos positivos de niveles elevados de homocisteína y AMM.

Homocisteína
Edad. Insuficiencia renal. Terapia con L-Dopa. Déficit de Acido fólico. Hiperhomocisteinemia familiar.
Acido metilmalónico (AMM)
Edad. Insuficiencia renal. Depleción de volumen.

Adaptado de: Shobha V. Vitamin B12 deficiency & levels of metabolites in an apparently normal urban south Indian elderly population. Indian J Med Res 2011; 134:432-439.

Holotranscobalamina (holoTC)

Herzlich y Herbert postularon que el cambio más temprano que tiene lugar en los pacientes con un balance negativo de Vitamina B12 es el descenso en la concentración de la holotranscobalamina (Herzlich B, 1988).

La determinación de la *holotranscobalamina (holoTC)* es el último marcador que se ha incorporado en la práctica clínica habitual para el diagnóstico de la deficiencia de Cobalamina y puede convertirse en los próximos años en una prueba básica para el diagnóstico del déficit de Vitamina B12 (Andrès E, 2004; Herrman W, 2005; Langan RC, 2011). Sobre todo, su principal interés radica en la capacidad de detectar los casos de deficiencia subclínica de la Cobalamina (Boulat O, 2012; Fragasso A, 2012; Herrman W, 2013).

Como ya mencionamos previamente, la holoTC ó complejo Transcobalamina II-Vitamina B12 representa la porción biodisponible de Vitamina B12 (Clarke R, 2007; Chatthanawaree W, 2011). Presenta pocas variaciones a lo largo del día, pudiendo hacerse la medición de la misma en ayunas o no (Braillard O, 2012).

También aumenta sus valores en pacientes con insuficiencia renal, aunque en menor medida que el AMM y la homocisteína. Además, todavía hay muchas situaciones en las que no se ha podido validar su utilidad como p.e en las enfermedades hepáticas, alteraciones hematológicas, deficiencia concomitante de ácido fólico o consumo de alcohol (Willis CD, 2011; Braillard O, 2012).

1.2.5.4 Pros y contras de los diferentes biomarcadores

Según Allen y su grupo, en los modelos de regresión múltiple, tanto el AMM como la homocisteína predijeron las mismas carencias funcionales que los niveles bajos de Vitamina B12 plasmáticos (Allen LH, 2004). Por otra parte, Miller demostró que la determinación sérica de Vitamina B12 y holoTC total tienen la misma exactitud diagnóstica en la detección de la deficiencia de Vitamina B12 metabólica. Incluso, según

el mismo autor la medición de ambos (holoTC y Vitamina B12) ofrece un mejor diagnóstico para la deficiencia de Vitamina B12 que cualquier test solo (Miller JW, 2006). Por su parte Boulat, establece que en la deficiencia clínica de la Vitamina B12, tanto la determinación de Cobalamina como la de holotranscobalamina tienen un rendimiento muy similar como pruebas diagnósticas (Boulat O, 2012).

A continuación se muestra en la siguiente tabla las ventajas y desventajas de los test de laboratorios más utilizados habitualmente para el diagnóstico del déficit de Vitamina B12 (Hvas AM, 2006; Chatthanawaree W, 2011; Braillard O, 2012; Stabler SP, 2013) (**Tabla 17**).

Tabla 17. Pros y contra de los test de laboratorios usados para el diagnóstico del déficit de Vitamina B12.

Tests en plasma	Justificación y ventajas	Desventajas
Cobalamina (Cbl)	• Disminución del déficit de Vit. B12. • Fácilmente accesible. • Barato.	• Variación en el intervalo de referencia debido a los diferentes métodos utilizados. Sensibilidad y especificidad discutible. • Falso positivo si se reduce la haptocorrina. • Falso negativo si haptocorrina se incrementa (p.e en la leucemia mieloide crónica).
Ácido metilmalónico (AMM)	• Incremento en el déficit de Vit. B12. • Alta sensibilidad.	• No accesible fácilmente. • Caro. • Especificidad discutible: falso positivo si disminución de la función renal.
Homocisteína total (Hcy total)	• Incremento en el déficit de Vit. B12. • Alta sensibilidad.	• Se requiere un procedimiento especial para el manejo de la muestra. • Baja especificidad, influenciados por los factores de estilo de vida (fumar, ingesta de alcohol, consumo de café). • Falso positivo en la deficiencia de folato y en el déficit de vitamina B6. • Falso positivo con reducción de función renal.
Holotranscobalamina (holoTC)	• Disminución en el déficit de Vit. B12. • Se espera que tenga una alta sensibilidad	• La especificidad no es muy alta. • No disponibilidad en todos los centros. • No validada si existen comorbilidades.

Adaptado de: Hvas AM. *Diagnosis and treatment of vitamin B12. An update.* Haem 2006; 9:1506-1512.
 Braillard O. *Hypovitaminose B12: quoi de neuf ?.* Rev Med Suisse 2012; 8:1805-1810.

1.2.5.5 Aproximación diagnóstica del déficit de Vitamina B12

No se recomienda la realización de más test ó pruebas si en la realización de la historia clínica se documenta insuficiencia dietaria como p.e en los vegetarianos (Hvas AM, 2006).

Incluso en los pacientes mayores en los que el diagnóstico de déficit de Vitamina B12 es obvio en base a los hallazgos clínicos y analíticos y su equipo se plantean la posibilidad de no realizar más pruebas diagnósticas (Hvas AM, 2006; Langan RC, 2011; Stabler SP, 2013). Según la situación particular de cada caso, se pueden realizar unas y otras determinaciones (Evatt ML, 2010) (**Tabla 18**).

Tabla 18. Medidas de aproximación diagnóstica del déficit de Vitamina B12.

Problema	Objetivo	Determinaciones sugeridas
Pacientes con síntomas o signos hematológicos, neurológicos o ambos.	Confirmar la sospecha de deficiencia de Vitamina B12.	Vitamina B12 sérica.
Pacientes con síntomas ó signos hematológicos, neurológicos o ambos debidos con baja probabilidad a déficit de Vitamina B12.	Asegurarse de la deficiencia de Vitamina B12.	Vitamina B12 , AMM y Hcy.
Pacientes asintomáticos con enfermedad conocida que causa déficit de Vitamina B12.	Determinar si se ha desarrollado ya el déficit de Vitamina B12.	AMM (los cambios metabólicos preceden a la deficiencia de Vitamina B12)
Pacientes asintomáticos en los que accidentalmente se encuentran niveles bajos de Vitamina B12 o altos de Hcy.	Determinar si existe déficit de Vitamina B12.	AMM

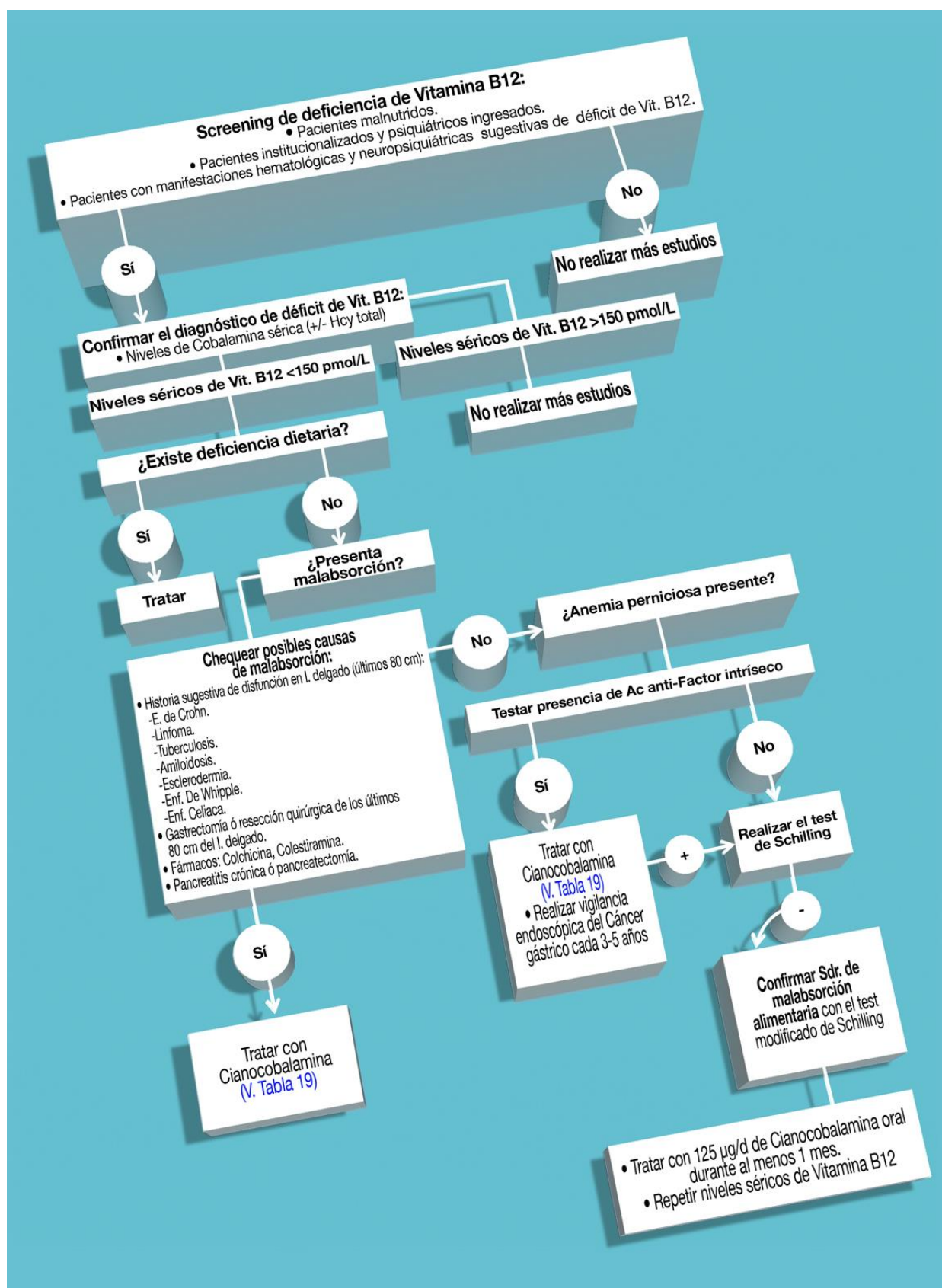
Abreviaturas: AMM: Acido Metilmalónico. Hcy: Homocisteína.

Fuente: Evatt ML. Vitamin B₁₂ deficiency: detection and diagnosis. Why vitamin B12 deficiency should be on your radar screen www.cdc.gov/ncbddd/b12/detection.html.

La cuestión del screening sigue siendo todavía un tema a debate. El razonamiento para la realización del mismo es la detección precoz del déficit de Vitamina B12 (Hvas AM, 2006; Stabler SP, 2013).

En los últimos años, numerosos algoritmos diagnósticos han sido propuestos (Andrès E, 2004; Ray JG, 2005; Braillard O, 2012; Berg RL ,2013) para el estudio de los pacientes con probable déficit de Vitamina B12 como el que se muestra a continuación (Andrès E, 2004) (**Figura 8**).

Figura 8. Proceso diagnóstico de la deficiencia de Cobalamina.



Adaptado de: Andr s E. Vitamin B12 (cobalamin) deficiency in the elderly patients. CMAJ 2004; 251-259.

1.2.6 Tratamiento del déficit de Vitamina B12

En la actualidad, existen dos formas comerciales de la Vitamina B12, la Ciano-cobalamina cristalina, más utilizada en EE.UU y la Hidroxi-cobalamina cristalina, en Europa (Dharmarajan TS, 2001). En el caso de la Ciano-cobalamina es necesaria la eliminación enzimática del grupo Ciano para conseguir la molécula activa (Herbert V, 1999). El tratamiento tradicional ha sido la administración intramuscular de Vitamina B12 en dosis de 1 mg/día, inicialmente diaria durante siete días, después pautas variables en las siguientes tres semanas y posteriormente continuar con una dosis de mantenimiento de 1 mg cada 1-2 meses.

Varios estudios han demostrado que incluso en los pacientes con anemia perniciosa documentada son capaces de absorber por difusión pasiva el 1% de la dosis oral de Vitamina B12. Se ha constatado que dosis de 300 a 1000 mcg/día de Cobalamina oral elevan los niveles séricos y previenen la aparición de complicaciones relacionadas con su déficit (Mariño Suárez JE, 2012; Andrès E, 2012). Todavía no se ha establecido la dosis oral óptima ni la pauta más adecuada, especialmente en los sujetos de edad más avanzada, no obstante se han propuesto algunos esquemas terapéuticos en este sentido como el que se muestra a continuación (Andrès E, 2012) (**Tabla 19**).

Tabla 19. Algoritmo de tratamiento del déficit de Vitamina B12.

Administración parenteral (independientemente de la etiología) • Tratamiento intensivo: Cianocobalamina 1000 mcg diarios por una semana, continuar con 1000 mcg semanal por un mes. • Tratamiento de mantenimiento: Cianocobalamina 1000 mcg al mes hasta que se corrija la causa o de por vida si la causa es por anemia perniciosa
Administración oral (por ingesta deficiente, síndrome de malabsorción alimentaria de cobalamina y anemia perniciosa) • Tratamiento intensivo: Cianocobalamina 1000 mcg diarios por un mes. • Tratamiento de mantenimiento: Cianocobalamina 125-500 mcg diarios cuando la causa es ingesta deficitaria o síndrome de malabsorción o Cianocobalamina 1000 mcg diario si la causa es anemia perniciosa.

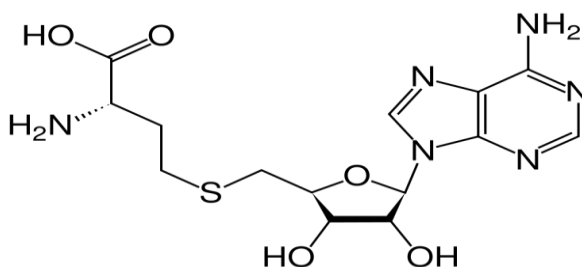
Fuente: Andrès E. *Update of nutrient-deficient anemia. Conn's Current Therapy 2012. pp 840-1.*

2. HOMOCISTEINA

2.1 Generalidades

La homocisteína (Hcy) es un aminoácido sulfurado que se forma durante la conversión de metionina a cisteína (Mattsson MP, 2002; Chichizola C, 2003; Marengoni A, 2004; Gellekink H, 2005; Bermúdez M, 2006; Mahalle N, 2013) (**Figura 9**). En los últimos años se ha identificado la hiperhomocisteinemia como factor de riesgo cardiovascular independiente (de Ruijter W, 2009; Kumar J, 2009; Smulders YM, 2011; Mahalle N, 2013). Su descubrimiento se debe a Vincent du Vigneaud quien en 1932 descubrió un nuevo aminoácido tratando la metionina con ácido sulfúrico. Debido a que este aminoácido presenta una estructura similar a la cisteína y contiene un carbono extra, decidió denominarlo homocisteína (Hcy). En 1955 ganó el Premio Nobel de Química por sus estudios y aportaciones pioneros sobre aminoácidos sulfurados, hormonas y vitaminas (McCully KS, 2007).

Los *factores genéticos* son los principales determinantes de las concentraciones de Hcy. Sin embargo, la dieta y otras variables fisiológicas influyen de forma acusada sobre las concentraciones de Hcy. La homocisteína aumenta con la edad, el sedentarismo y la dieta pobre en folatos, Vitamina B12 ó B6 (Pinto Sala X, 2004; Marosi K, 2012). De tal forma que la hiperhomocisteinemia constituye un marcador sensible de la deficiencia de Cobalamina y/o folato (Chichizola C, 2003; Refsum H, 2004).



Arriba. Figura 9. Estructura bioquímica de la homocisteína (Hcy). **Izquierda. Foto 3.** Vincent du Vigneaud, bioquímico americano que ganó el Premio Nobel de Química en 1955 por sus trabajos y aportaciones en el campo de las hormonas, aminoácidos y vitaminas. Investigó el papel de la homocisteína en el metabolismo y la capacidad de la misma y la colina para reemplazar la metionina como nutriente esencial en el crecimiento de los animales.

En 1953, Frederick y sus colegas encontraron que las concentraciones de colesterol y la aterogénesis experimental en los monos se podían inhibir mediante la incorporación de metionina en la dieta. Estos hallazgos sugirieron una relación entre la arteriosclerosis y el metabolismo de los aminoácidos sulfurados (McCully KS, 2007).

Las concentraciones plasmáticas normales de homocisteína tienen un rango de 5 a 15 $\mu\text{mol/L}$ (Marosi K, 2012). Los valores tienden a ser mayores en el sexo masculino y se elevan con la edad en ambos sexos. Las personas con hiperhomocisteinemia son aquellas que tienen valores en ayunas superiores a 15 $\mu\text{mol/L}$ (Ventura P, 2001; Ravaglia G, 2005), aunque otros autores establecen el punto de corte en 13 $\mu\text{mol/L}$. (Campbell AK, 2003; Andr  s E, 2004; Dali-Youcef N, 2009). Estos estrechos límites de la homocisteína en sangre se mantienen gracias a sus 2 vías principales de eliminación, la vía de *transulfuración* y la vía de *transmetilación* (Gellekink H, 2005; Sánchez C, 2007; Brustolin S, 2010) (**Figura 10**).

Un 80% de la homocisteína del plasma está unida a proteínas y el resto se encuentra en forma oxidada, que se combina con otra molécula de homocisteína para formar el dímero homocistina,    con cisteína para formar para constituir la forma disulfuro mixto cisteína-homocisteína (Pinto Sala X, 2004; Brustolin S, 2010; Marosi K, 2012).

Cuando se mide la concentración de homocisteína se incluye al conjunto de todas las moléculas mencionadas. Los niveles de Hcy plasmática van aumentando con la edad, estimándose que suben aproximadamente 1 $\mu\text{mol/L}$ cada 10 años de vida (Pinto Sala X, 2004) (**Tabla 20**). La hiperhomocisteinemia, a diferencia de otras trombofilias, es un factor de riesgo tanto para la enfermedad cardiovascular del joven (menor de 50 años), como en las personas mayores (Evers S, 1997; Sadeghian S, 2006; Eftychiou C, 2012).

2.2 Teoría de la homocisteína

Hace ya casi 40 años, en 1969, McCully postulaba que la concentración moderadamente elevada de la homocisteína en plasma podría incrementar el riesgo de enfermedad cardiovascular al demostrar lesiones en la pared de los vasos en pacientes afectos de alteraciones metabólicas del metabolismo de la metionina (Ungvari Z, 2004; Trabetti E, 2008; Lominadze D, 2012). Pocos años después en 1976, Wilckend y Wilcken

publicaron que pacientes con enfermedad arterial coronaria (EAC) demostrada angiográficamente presentaban hiperhomocisteinemias moderadas en plasma en comparación con sujetos sanos (Trabetti E, 2008). Posteriormente, numerosos estudios han sugerido la hiperhomocisteinemia moderada o severa como un factor de riesgo independiente de enfermedad coronaria o cerebrovascular (Homocysteine Studies Collaboration, 2002; McCully KS, 2005; Kumar J, 2009; Lee YM, 2012; Lippi G, 2012; Kamdi SP, 2013).

En 1984, se publica el primer trabajo que señala que la hiperhomocisteinemia es un factor de riesgo independiente de enfermedad cardiovascular (ECV) tanto arterial como venosa (Perry IJ, 1995). Estudios posteriores demuestran resultados similares (Gellekin H, 2005; den Heijer M, 2005; Mahalle N, 2013). Así p.e en un metaanálisis realizado en 2002 en el que se reclutaron más de 3.820 personas de un total de 16 estudios se constató que por cada aumento en 5 $\mu\text{mol/L}$ de homocisteína plasmática, aumentaba en un 32% el riesgo de padecer un infarto agudo de miocardio. Por su parte, Hankey et al. apuntan también a un aumento del 33% el riesgo de presentar una enfermedad vascular oclusiva (Wald D, 2002; Hankey GJ, 2004).

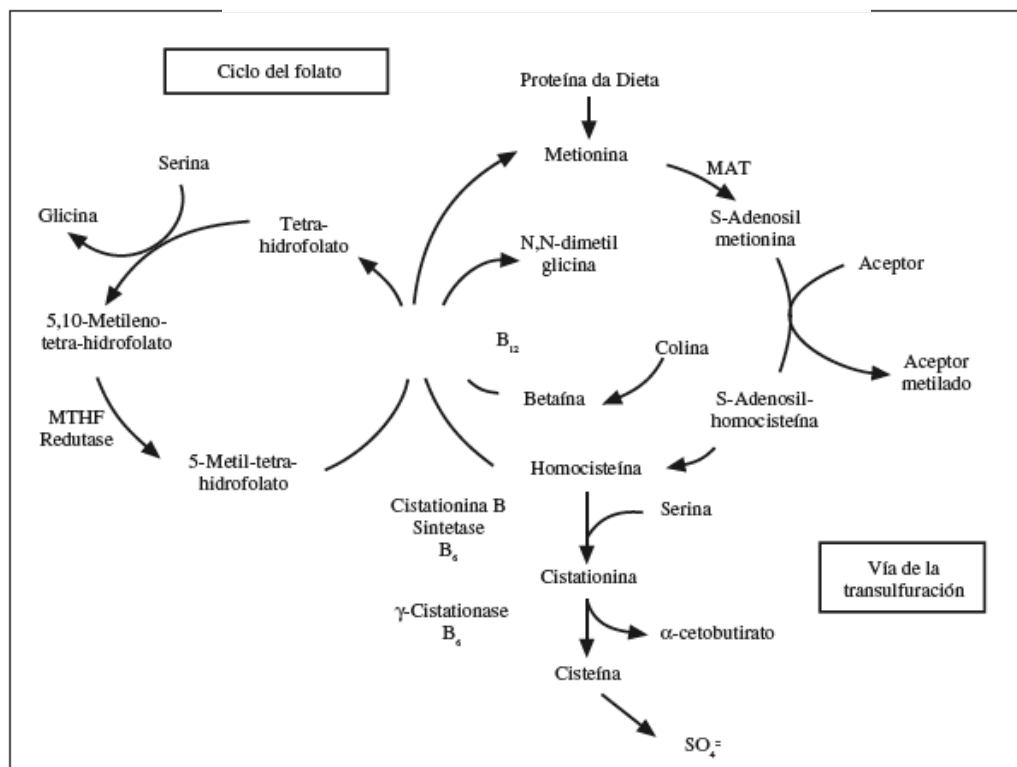
La hiperhomocisteinemia se ha relacionado con la enfermedad cardiovascular (Lippi G, 2012). Algunos trabajos la relacionan con mayor frecuencia con enfermedad cerebrovascular (Evers S, 1997). El mecanismo por el cual la hiperhomocisteinemia produce trombosis de los vasos es doble. Por una parte, favorece la aterogénesis y por otra parte, altera la función de la pared de los vasos favoreciendo la trombogénesis. En algunos casos, este último mecanismo es el predominante, lo que tiene importancia práctica clínica (Hankey GJ, 1999; Pinto Sala X, 2004) (**Tabla 21**). Así, el exceso de homocisteína da lugar a una alteración de las células del endotelio arterial que cursa con una menor capacidad de vasodilatación arterial ante estímulos que activan la producción de óxido nítrico endotelial. La lesión endotelial ocurriría porque durante la autooxidación de la homocisteína en el plasma se generan radicales libres tóxicos que pueden lesionar las células endoteliales, aunque también podría ejercer un efecto citotóxico directo (Welch GN, 1998; Pinto Sala X, 2004; Marosi K, 2012). Además reduce la actividad de la enzima glutatión peroxidasa (GPX) e induce la oxidación de las partículas LDL (Marosi K, 2012). Incluso se ha documentado que la

hiperhomocisteinemia incrementa la expresión de NF-kappa B, MCP-1 e interleucina 8 (IL-8) en las células endoteliales (Ungvari Z, 2004; Marosi K, 2012).

2.3 Metabolismo de la homocisteína

La homocisteína desempeña una importante función metabólica al participar en un sistema de transferencia de grupos metilo. La metionina cede su grupo metilo en una reacción catalizada por una metil-transferasa, y da lugar a la S-adenosilhomocisteína, la cual se desprende por hidrólisis de la adenosina, y se obtiene homocisteína libre (Chichizola C, 2003; Aguirre Errasti C, 2009; Brustolin S, 2010; Sukla KK, 2012; Bhargava S, 2012; Lippi G, 2012) (**Figura 10**).

Figura 10. Metabolismo de la homocisteína.



Abreviaturas: MAT: Metionina adenosiltransferasa. MTHF: Metilentetrahidrofolato.

Fuente: Sánchez C. Vitaminas B y homocisteína en la insuficiencia renal crónica. *Nutr Hosp* 2007; 22(6):61-71.

Como ya citamos previamente, la Hcy se metaboliza fundamentalmente por dos vías: la vía de la remetilación y la vía de la transulfuración (Henning BF, 1999; Gellekink H, 2005; Rosenson RS, 2012). La *vía de la remetilación* permite la recuperación de

metionina mediante dos rutas de transferencia de un grupo metilo (Bhargava S, 2012):

Ruta 1. Desde la betaína se transfiere un grupo metilo a la Hcy. En esta reacción, catalizada por la betaína-homocisteína metiltransferasa, la homocisteína se transforma en metionina y la betaína lo hace en dimetilglicina.

Ruta 2. Desde el 5-metiltetrahidrofolato, el mayor donador de unidades metilo en la reconversión de homocisteína a metionina (sintetizado a partir del 5,10-Metilenotetrahidrofolato por la enzima Metilenotetrahidrofolato reductasa), se transfiere el grupo metilo a la homocisteína. En esta 2ª ruta, catalizada por la 5-metiltetrahidrofolato-homocisteína-S-metiltransferasa o metionina sintasa (MS), el coenzima enzimático necesario es la Metil-cobalamina (forma coenzimática de la Vitamina B12) (Chichizola C, 2003; Zhou SJ, 2012).

La vía de transulfuración representa una alternativa en caso de que la metionina esté en relativo exceso en el organismo y no se requiera su recuperación, y permite la síntesis del aminoácido cisteína. Su reacción clave es catalizada por la Cistationina B Sintasa (CBS), que tiene como grupo prostético al fosfato de piridoxal, derivado de la Vitamina B6 (Meier M, 2001; Marosi K, 2012; Lippi G, 2012; Halsted CH, 2013) (**Figura 10**).

2.4 Prevalencia de la hiperhomocisteinemia

A pesar de la alta importancia de la determinación de la homocisteína sérica, existen pocos estudios sobre la prevalencia de hiperhomocisteinemia en pacientes hospitalizados (Ventura P, 2001; Marengoni A, 2004; Viña Rodríguez JJ, 2006; Damelan K, 2010; Lietava J, 2012). En estudios comunitarios publicados en los años 90 ya se estableció una prevalencia en personas mayores entre un 30 y un 56% (Pennypacker LC, 1992; Joosten E, 1993). En 2007, un estudio realizado entre 557 individuos sanos canarios demostró una prevalencia global del 21,4% (Henríquez P, 2007). En 2001, un grupo italiano sobre una serie de 600 pacientes ingresados en un Servicio de Geriátrica observaron hiperhomocisteinemia en el 61% de los individuos (365/600) (Ventura P, 2001); por su parte, Marengoni y su grupo objetivaron unos niveles de Hcy superiores a 12 $\mu\text{mol/L}$ en el 74% de los varones y 69% de las mujeres (Marengoni A, 2004); Posteriormente, otro estudio español realizado en 337 pacientes hospitalizados mayores de 65 años, constató que el 47,2% tenían hiperhomocisteinemia (Hcy >15 $\mu\text{mol/L}$) (Viña Rodríguez JJ, 2006).

En 2010, en una cohorte de 183 pacientes con diagnóstico clínico y radiológico de enfermedad cerebrovascular el 61% de los sujetos presentaba hiperhomocisteinemia, siendo el segundo factor de riesgo cardiovascular tras la hipertensión arterial en cuanto a prevalencia (Damelan K, 2010); por su parte Lietava y su grupo demostraron una prevalencia de hiperhomocisteinemia del 32,9% en pacientes con cardiopatía isquémica crónica frente al 13,6% en una población control (Lietava J, 2012).

2.5 Etiología de la hiperhomocisteinemia

El aumento de la homocisteína plasmática puede ser debido tanto a causas adquiridas como hereditarias (Haynes WG, 2002; Aguirre Errasti C, 2009; Yang B, 2013; Rosenson RS, 2013). Dentro de las primeras destacan principalmente la disminución de ácido fólico, Vitamina B12 y Vitamina B6. Éstas están disminuidas en 1/3 de las enfermedades cardiovasculares isquémicas que presentan un aumento de la homocisteína (Pinto Sala X, 2004) (**Tabla 22**). Las causas hereditarias se deben a la alteración de alguna de las enzimas que tiene relación con el metabolismo de la homocisteína. De ellas cabe destacar la enzima Metilentetrahidrofolatorreductasa (MTHR) por ser la causa genética más frecuente de hiperhomocisteinemia (Pinto Sala X, 2004). También hay que mencionar las interrelaciones de las vitaminas anteriormente reseñadas en el metabolismo de la homocisteína (Sukla KK, 2012). En casos de hiperhomocisteinemia, aunque los valores de estas vitaminas estén en límites normales, si se suplementan, disminuyen incluso hasta en un 95% de los casos los niveles de homocisteína (Coppola A, 2000; Lonn E, 2006; Martí-Carvajal AJ, 2013).

Tabla 20. Límite superior de referencia para las concentraciones de homocisteína (μmol/L) en situación de ayuno en distintos grupos de población.

Grupo	Individuos que consumen suplementos de folatos	Individuos que no consumen suplementos de folatos
Embarazo	8	10
Niños (<15 años)	8	10
Adultos (15-65 años)	12	15
Ancianos (>65 años)	16	20

Fuente: Pintó Sala X. La homocisteína en la prevención de las enfermedades cardiovasculares. Jano 2004; 67(1541): 75-78.

Tabla 21. Mecanismos de lesión y oclusión vascular en la hiperhomocisteinemia.

1. Peroxidación lipídica, producción de H₂O₂ y peroxinitrito.
2. Lesión y disfunción endotelial, proliferación de células musculares lisas, síntesis de colágeno.
3. Lesión de la estructura celular, lesión mitocondrial, expresión de HSP-70, metaloproteinasas.
4. Aumento de la quimiotaxis y adhesión leucocitaria: aumento de VCAM-1, sICAM-1, vWF.
5. Aumento de la coagulación sanguínea: aumento de la expresión de factor tisular, inactivación de la proteína C, activación del factor V.
6. Aumento de la agregación plaquetaria: aumento de producción de TXA₂ y TXB₂.
7. Disminución de la fibrinólisis: aumento de PAI-1; disminución de la trombomodulina en la superficie de las células endoteliales; aumento de la unión de la LP(a) a la fibrina; disminución de la expresión de heparan sulfato.

Abreviaturas: **HSP-70:** heat shock proteins. **LP(a):** Lipoproteína A. **sICAM-1:** Molécula de adhesión intercelular soluble. **TX:** Tromboxano. **VCAM-1:** Vascular cell adhesion molecule 1. **vWF:** von Willebrand factor.

Tabla 22. Causas de hiperhomocisteinemia.

1. Causas hereditarias:	Mecanismo	Grado
• MTHFR C677T. (homocigosidad). • CBS (heterocigosidad). • Homocisteinuria.	↓ remetilación Hcy. ↓ transulfuración Hcy. ↓ remetilación Hcy y/o transulfuración.	↑ ↑ ↑↑↑
2. Causas adquiridas:	Mecanismo	Grado
2.1 Factores nutricionales: • Déficit de Folato. • Déficit de Vitamina B6. • Déficit de Vitamina B12.	↓ remetilación Hcy. ↓ remetilación Hcy. ↓ transulfuración Hcy.	↑↑ ↑↑↑ ↑
2.2. Consumo de café	Interferencia con la Vit. B6. ↑ requerimientos grupo metilo.	
2.3. Tóxicos: • Tabaquismo. • Alcohol.	Interferencia con la Vit. B6, B12 y ácido fólico. Interferencia con la Vit. B6, B12 y fólico. Inhibición enzimática.	(↑) (↑)
2.4. Procesos patológicos: • Insuficiencia renal. • Psoriasis severa • Cáncer. • Artritis reumatoide • Hipotiroidismo.	Alteración remetilación. Proliferación celular (>consumo de folatos). Alteración enzimática.	↑↑ ↑
2.4. Fármacos: • Oxido nitroso. • Metotrexato. • Teofilina. • Antiepilépticos. • Colestipol y colestiramina. • Acido nicotínico. • Fibratos. • Trimetoprim. • Metformina.	Inactivación de la MS. Inhibición de la DHFR. Inhibición de la piridoxalcatasa. Depleción de folatos. ↓ Absorción AF y Vit. B12. Antagonismo de la Vit. B6. Activación de PPARα ? Función renal. Inhibición de la DHFR. Inhibición de la absorc. Vit. B12	↑↑ ↑ ↑ ↑ (↑) ↑ ↑ ↑ (↑)
• Ciclosporina A. • Levodopa.	Alt. función renal. Competición por metilación. dependiente de la SAM.	↑ ↑

Abreviaturas: **AF:** Acido fólico. **CBS:** Cistationina B Sintasa. **DHFR:** Dihidrofolato Reductasa. **Hcy:** Homocisteína. **MS:** Metionina Sintasa. **PPARα:** Receptores activados de proliferación de los peroxisomas tipo α. **SAM:** Adenosil Metionina.

Fuente: Pintó Sala X. La homocisteína en la prevención de las enfermedades cardiovasculares. *Jano* 2004; 67(1541): 75-78.

2.6 Consecuencias de la hiperhomocisteinemia

Hiperhomocisteinemia y riesgo cardiovascular

La relación entre las concentraciones de Hcy y el riesgo cardiovascular es continuo y gradual (Kamdi SP, 2013), aunque no parece existir un valor umbral a partir del cual se inicie o desaparezca el riesgo. Dicha relación se observa tanto en los varones como en las mujeres así como en las personas de edad media y avanzada (Ueland PM, 2000).

En cuanto a la relación de la hiperhomocisteinemia y la enfermedad arterial coronaria, Humphrey y su grupo consideraron 26 estudios en el modelo final que mostró un 20-50% más de riesgo de EAC por cada incremento de 5 $\mu\text{mol/L}$ en el nivel de Hcy medida; el resultado de riesgo relativo combinado (RR) para los eventos coronarios fue de 1,18 (IC del 95%: 1,10-1,26) por cada incremento de 5 $\mu\text{mol/L}$ en el nivel de Hcy, independientemente de los factores de riesgo cardiovascular tradicionales (Humphrey LL, 2008).

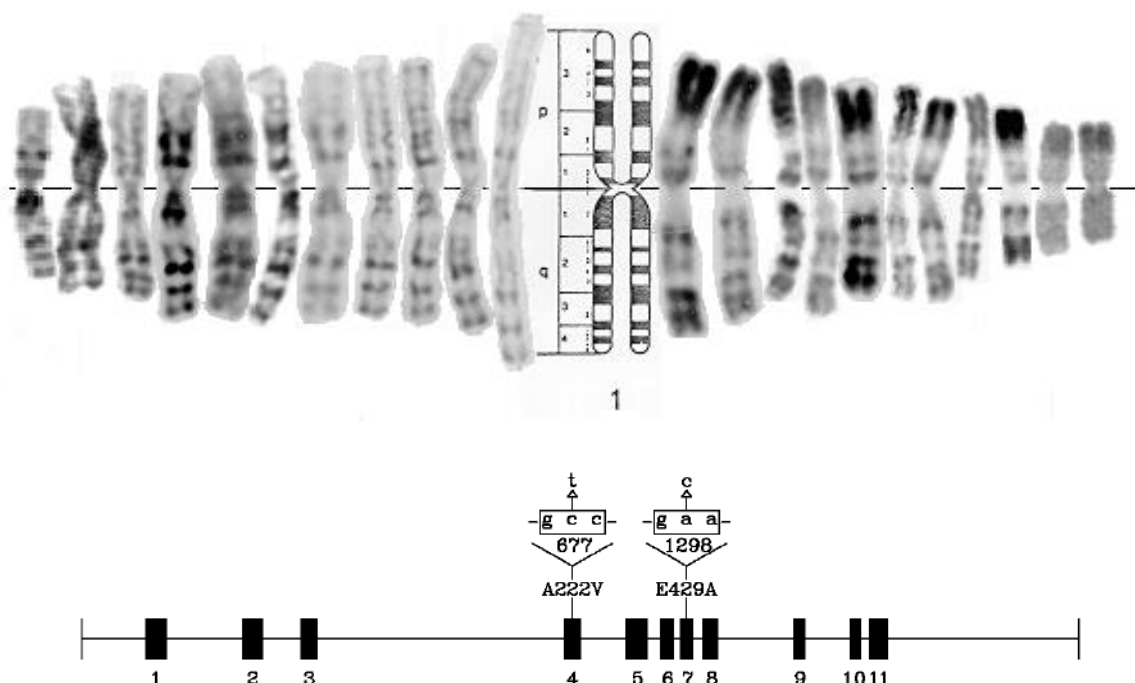
También se ha observado relación entre la hiperhomocisteinemia y la enfermedad arterial periférica (EAP). Khandanpour demostró a través del análisis de 14 estudios relevantes que los niveles de Hcy fueron significativamente elevados en los pacientes con enfermedad arterial coronaria en comparación con los controles (Khandanpour N, 2009). En 2005, se publica un metáanálisis que relaciona la hiperhomocisteinemia con enfermedad trombotica venosa (ETV). Tras analizar 24 estudios retrospectivos (n=3.289) y tres estudios prospectivos (n=476 casos), concluyeron que un aumento de los niveles de homocisteína en plasma de 5 $\mu\text{mol/L}$ se asociaban con un riesgo adicional del 27% de presentar ETV en estudios prospectivos, y un 60% más de riesgo en estudios retrospectivos (den Heijer M, 2005).

3. GEN DE LA ENZIMA 5,10-METILENTETRAHIDROFOLATO REDUCTASA

3.1 Generalidades

La 5,10-Metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) es una enzima clave en el metabolismo de la homocisteína y del ácido fólico (Bjelland I, 2003). Su disfunción se relaciona con un aumento de los niveles de Hcy en sangre (Sukla KK, 2012; Mahalle N, 2013). Esta enzima cataliza la reducción del 5,10-Metilentetrahidrofolato (5,10-MTHF) a 5-Metiltetrahidrofolato (5-MTHF), que constituye la principal forma de folato circulante y co-sustrato de la remetilación de la Hcy a metionina (Zittan E, 2007; Ozbek Z, 2008; Marosi K, 2012) (**Figura 10**). Por tanto, constituye un precursor crítico en la cascada de reacciones que conducen a la metilación de diversas moléculas, incluyendo el ADN (García-Robles R, 2011). El gen de la enzima 5,10-MTHFR contiene 2,2 kilobases, está localizado en el cromosoma 1 (1p36.3) y codifica una proteína de 77 kDa (Goyette PM, 1998; Trabetti E, 2008; Malinowska A, 2009; Sensoy N, 2012) (**Fig. 11**).

Figura 11. Localización y representación esquemática del gen de la enzima 5,10-Metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR).



Fuente: Trabetti E. Homocysteine, MTHFR gene polymorphisms and cardio-cerebrovascular risk. *J Appl Genet* 2008; 49(8): 267-282

3.2 Variantes genéticas

Se han descrito hasta 29 *mutaciones* que afectan al gen de la enzima 5,10-MTHFR, ya sea en su funcionalidad, cantidad o ambas, lo que produce un aumento de la concentración de los niveles de homocisteína en el plasma y los tejidos (Ueland PM, 2001; Bjelland I, 2003; Sukla KK, 2012). De estas mutaciones hay dos polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, del inglés simple nucleotide polymorphism), la C677T y la A1298C que se han asociado con una disminución de la actividad de esta enzima (García-Robles R, 2011).

La mutación genética más frecuente es la C677T de la enzima 5,10-metilentetrahidrofolato reductasa. Esta mutación fue identificada inicialmente por Kang y demostrada posteriormente por Frosst (Kang SS, 1991; Frosst P, 1995). Existen 3 *presentaciones genotípicas* para este polimorfismo, la *forma CC* (normal) y dos formas anómalas: la *forma CT* (genotipo heterocigoto) y la *forma TT* (genotipo mutado). Estas mutaciones producen una disminución de la actividad enzimática del 30% para la forma CT y del 50-60% para la *forma TT* (Frosst P, 1995; Malinowska A, 2009; Miyaki K, 2010; Marosi K, 2012). Esta última forma también llamada termolábil se caracteriza por una mutación puntual en la posición 677 del exón 4 del gen, que consiste en una transición de una citosina (C) por timina (T). Esta mutación determina la sustitución del aminoácido alanina por valina en el dominio catalítico de la enzima. Como consecuencia, los niveles plasmáticos de homocisteína de los individuos que presentan dicha variante pueden verse alterados, alcanzándose con frecuencia el estado de hiperhomocisteinemia. Así varios autores han demostrado que la condición *homocigota TT* del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR se relaciona de forma significativa con hiperhomocisteinemia (James SJ, 1999; Selhub J, 2008; Coppédè F, 2009). Incluso un metáanálisis realizado por Brattsröm demostró que los individuos que presentan el *genotipo TT* tienen incrementados los niveles de Hcy en un 25% (Brattsröm L, 1998). También, en condiciones de baja ingesta de folatos, el *genotipo TT* se asocia a hiperhomocisteinemia (Martínez Frías ML, 2004; González Martín-Moro B, 2005; Yang Q, 2012), disminución de la concentración de folatos en el plasma, disminución de la metilación del DNA genómico, enfermedad cardiovascular, algunos tipos de cáncer y a una menor respuesta a la suplementación con folatos (Jacques PF, 1996).

3.3 Prevalencia de las formas genotípicas del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR

Diversos estudios han demostrado variaciones étnicas y regionales para las frecuencias alélicas y genotípicas de esta mutación (Rodríguez Esparragón F, 2003; Holm PI, 2007; Barbosa PR, 2008; Kumar J, 2009; Qin X, 2012; Sukla KK, 2012). Así p.e mientras en la población japonesa se demuestra una prevalencia entre el 26 y el 37% (Papapetrou C, 1996; Sohda S, 1997; Nishio K, 2008), en poblaciones afro-americanas se presenta en un porcentaje mucho más bajo (2-11%) (Stevenson RE, 1997; Dilley A, 2001; Carmel R, 2003).

En un amplio estudio realizado en más de 7.000 recién nacidos de diferentes etnias procedentes de distintas áreas de Europa, Asia, América, Oriente Medio y Australia, se observó que la distribución del *alelo T* mostraba una marcada variación étnica y geográfica. Así el *genotipo homocigoto TT* fue frecuente en China (20%), sur de Italia (26%) y Méjico (32%). Se observó también cierto gradiente en Europa con aumento de su prevalencia de norte a sur y en China de forma inversa, con descenso del norte al sur. El *genotipo TT* fue poco frecuente en los recién nacidos con ancestros africanos, algo más frecuente en los de origen europeo y aún más frecuente en los recién nacidos americanos con ancestros hispanos (Wilcken B, 2003) (**Tabla 23**).

De forma global en la población caucásica su incidencia es de aproximadamente el 40% para las *formas heterocigotas* y del 5-15% para las *formas homocigotas* (Botto LD, 2000; Cortese C, 2001; Martínez Frías ML, 2004; Sánchez-Marín B, 2006; Holm PI, 2007). A diferencia de lo que ocurre en otras mutaciones, como la del *Factor V Leiden* (Rees DC, 1995; Bhaijee F, 2012; van Mens TE, 2013) o la C282Y y H63D en la hemocromatosis (Merryweather-Clarke AT, 1998; Hernaez F, 2011; Trifa AP, 2012), que son relativamente frecuentes en toda Europa, el polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR es más frecuente en España y otros países del área mediterránea en comparación con el norte de Europa (Wilcken B, 2003; González Martín-Moro B, 2005; García Hernández MC, 2007). Es decir, en Europa, esta prevalencia se incrementa del norte hacía el sur, con valores bajos entre el 4 y 7% en Finlandia, Helsinki y Rusia, valores intermedios entre 8-10% en Francia y Hungría y, valores más elevados en

España (12-15%) (Gil-Prieto R, 2009) y norte de Italia (14-18%) (Girelli D, 1998; Motti C, 1998; Botto LD, 2000).

Esta variabilidad interterritorial también se observa en otras zonas del mundo (Abbate R, 1998; Chavez L, 2002; Zittan E, 2007; Kumar J, 2009; Isordia-Salas I, 2010). En este sentido, la prevalencia de esta mutación es menor en África comparada con Europa y Asia (Hambaba L, 2008; Ibrahim S, 2009; Rahimi Z, 2009), aunque se han encontrado hallazgos discordantes de hasta un 44,9% en indígenas brasileños y de un 4,5% en grupos de Sri Lanka (Schneider JA, 1998).

Tabla 23. Alelo y frecuencia de las formas genotípicas del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR por área y origen étnico a nivel mundial.

		Genotipo (No)*			Genotipo (%)			Frecuencia Alelo	
Área	Muestra No	CC	CT	TT	CC (%)	CT (%)	TT (%)	95% IC	T (%)
Europa									
Italia, Sicilia	468	138	236	94	29	50	20,1	16,7 a 24,0	45,3
Italia, Campania	500	172	196	132	34	39	26,4	22,7 a 30,4	46,0
Italia, Veneto									
Italianos blancos	385	128	198	59	33	51	15,3	12,1 a 19,3	41,0
Otros	47	27	15	5	57	32	10,6	4,6 a 22,6	26,6
España, multicentro									
Espanoles blancos	601	265	265	71	44	44	11,8	9,5 a 14,6	33,9
Otros	51	24	20	7	47	39	13,7	6,8 a 25,7	33,3
Francia, Estrasburgo	178	72	85	21	40	48	11,8	7,8 a 17,4	35,7
Países Bajos	188	97	79	12	52	42	6,4	3,7 a 10,9	27,4
Finlandia, Helsinki	545	293	230	22	54	42	4,0	2,7 a 6,0	25,1
Hungría	378	165	171	42	44	45	11,1	8,3 a 14,7	33,7
Rusia	587	312	234	41	53	40	7,0	5,2 a 9,3	26,9
Medio Oeste									
Israel	210	120	72	18	57	34	8,6	5,5 a 13,1	25,7
China									
Norte, etnia Han	643	201	315	127	31	49	19,8	16,9 a 23,0	44,2
Sur, etnia Han	430	167	228	35	39	53	8,1	5,9 a 11,1	34,7
Oceanía									
Australia									
Blancos	288	146	119	23	51	41	8,0	5,4 a 11,7	28,6
Otros	75	40	27	8	53	6	10,7	5,5 a 19,7	28,7
América									
Méjico	500	91	248	161	18	50	32,2	28,3 a 36,4	57,0
USA, Atlanta									
Blancos	300	142	126	32	47	42	10,7	7,7 a 14,7	31,7
Negros	298	231	59	8	78	20	2,7	1,4 a 5,2	12,6
Hispanos	62	22	29	11	35	47	17,7	10,2 a 29,0	41,1
Asiáticos	26	16	9	1	62	35	3,8	0,7 a 18,9	21,2
Otros, desconocidos	100	63	32	5	63	32	5,0	2,2 a 11,2	21,0
Canadá, Alberta									
Blancos	240	136	90	14	57	38	5,8	3,5 a 9,6	24,6
Otros	30	17	13	0	57	43	0,0	0,0 a 11,4	21,7
Total	7130								

Fuente: Wilcken B. Geographical and ethnic variation of the 677C>T allele of 5, 10 MTHFR: findings from over 7000 newborns from 16 areas world wide. *J Med Genet* 2003; 40: 619-625.

3.4 Consecuencias clínicas

Como ya se ha mencionado previamente, los pacientes afectados por esta mutación suelen experimentar una elevación de las concentraciones plasmáticas de homocisteína (D'Angelo A, 2000; Yajnik CS, 2006; González-Porras JR, 2007).

Varios meta-análisis han concluido que los individuos con el *genotipo TT* del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR tienen un mayor riesgo de padecer **enfermedad arterial coronaria** (EAC) (Wald DS, 2002; Klerk M, 2002). Walds et al. demostraron un 21% de riesgo adicional de presentar EAC en los individuos con la *forma TT* vs la *forma CC* (Wald DS, 2002). Klerk y su grupo tras la revisión de 40 estudios observacionales que incluían más de 11.000 casos y 12.758 controles, concluyen que los individuos con el *genotipo TT* tenían un 16% (OR, 1,16; IC 95%: 1,05 a 1,28) más de probabilidades de presentar EAC en comparación con los individuos que presentan el *genotipo CC* (Klerk M, 2002). Sin embargo, otros metanálisis obtienen resultados diferentes y **no observaron este aumento del riesgo trombótico** (Brattström L, 1998; Lewis SJ, 2005). En 1998, Brattström y su grupo publicaron un trabajo en el que analizaron 23 estudios que sumaban más de 12.000 individuos. No se demostró asociación con EAC ni con enfermedad trombótica venosa (Brattström L, 1998). Posteriormente, otro metanálisis publicado en 2005 en el que se englobaron 26.000 casos y 31.183 controles tampoco encontró asociación entre la *forma TT* y la EAC (Lewis SJ, 2005).

También se ha relacionado esta mutación con un mayor riesgo de presentar un ictus (Holmes MV, 2011; Sarecka-Hujar B, 2012). En un metanálisis del año 2011, con independencia del nivel de folato para los participantes homocigotos para el *alelo T* en comparación con los homocigotos para el *alelo C*, la OR fue de 1,37 (IC 95%: 1,25-1,50); La OR para individuos heterocigotos (*forma CT*) fue 1,14 (IC 95%: 1,08-1,21). Resultados para diferentes subtipos de ictus siguieron una distribución similar (Holmes MV, 2011). Un reciente metanálisis realizado en niños y adolescentes (822 casos y 1.552 controles) revela que el *genotipo TT* del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR es más común en pacientes con accidente cerebrovascular que en los controles (p=0,04, OR =1,57, IC 95%:1,02-2,41) (Sarecka-Hujar B, 2012). Sin embargo, en el metanálisis de Wald los resultados no fueron concluyentes. Analizaron

siete estudios (1.217 casos, con una edad media para la presentación de ictus de 63 años). La OR para los pacientes con la *forma TT* en comparación con los que presentaban la *forma CC* fue de 1,31 (IC 95%: 0,80-2,15). La razón de probabilidad asociada a la *forma CT* frente a la *forma CC* fue de 1,15 (IC 95%: 0,93-1,42) (Wald DS, 2002).

Por otra parte, se ha investigado la relación entre la mutación C677T del gen de la enzima 5,10-Metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) y la **enfermedad tromboembólica venosa** (ETEV), siendo los resultados comunicados discordantes (Wald DS, 2002; Ray JG, 2002). En la revisión realizada por Wald (n=3.449) se obtuvo una asociación significativa entre la *forma TT* y la trombosis venosa profunda (Wald DS, 2002); sin embargo, en el análisis realizado por Ray y su grupo (31 estudios que incluían 4.901 pacientes y 7.786 controles) sólo encontraron una débil asociación entre el *genotipo TT* y la ETEV (Ray JG, 2002). En un metanálisis posterior del año 2009 en el que se incluyeron 126.525 casos y 184.068 controles no se encontró asociación entre individuos *homocigotos TT* y enfermedad tromboembólica venosa (ETV) (OR=1,09; IC 95 % 0,97-1,24) (Gohil R, 2009).

No obstante, este mismo autor ha sugerido que la relación entre el polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR y la ETV no es igual entre los diferentes grupos étnicos. Así p.e encuentran una asociación estadísticamente significativa entre la *forma TT* y ETV en población china y tailandesa (OR=1,57 IC 95 % 1,23-2,00). Según sus resultados, la *forma TT* tiene escaso valor en población caucasiana, pero puede tener importancia en otros determinados grupos étnicos (Gohil R, 2009). González-Porras y su grupo analizaron una serie de 300 pacientes consecutivos con un primer episodio de ETV comparado con 300 individuos sanos pareados por edad y sexo. Comprobaron que la distribución de los diferentes genotipos del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR y la *frecuencia alélica T* fue similar en ambas poblaciones, pacientes y controles (OR=1,0, intervalo de confianza IC 95% 0,7-1,5) (González-Porras JR, 2007).

Recientemente se ha sugerido que estas variantes genotípicas del polimorfismo C677T podrían estar asociadas de forma independiente al desarrollo de enfermedades cardiovasculares y enfermedades como la hipertensión arterial, debido a la participación

del producto de la enzima MTHFR (5-Metil-tetrahidrofolato/5-MTHF) en la regulación de las funciones endoteliales (Marosi K, 2012).

3.5 Polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR y déficit de la Vitamina B12

Son muy pocos los estudios que han descrito una mayor prevalencia del déficit de Vitamina B12 entre los pacientes que presentan la *forma termolábil* de la mutación C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR, alcanzando cifras de hasta el 30%, aunque no existe ninguna evidencia concluyente que pueda justificar esta asociación (Zittan E, 2007; Hustad S, 2007; Holm PI, 2007; Al-Tahan J, 2008; Barbosa PR, 2008; Thuesen BH, 2010).

D'Angelo y su grupo aunque no demostraron diferencias de los niveles de Vitamina B12 en relación al *genotipo TT* del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR, apuntan a posibles anormalidades no identificadas de la enzima Metionin Sintasa (MS) o de cualquiera de las otras enzimas que participan en la ruta metabólica de la Hcy, las cuales podrían desempeñar un papel importante para justificar esta asociación. (D'Angelo A, 2000).

También se ha observado que la interacción de niveles más bajos de Vitamina B12 junto con la *forma TT* del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR se asocia con niveles más altos de homocisteína (Motti C, 1998; Barbosa PR, 2008) dando lugar en algunos casos a una hiperhomocisteinemia moderada o severa (Chung SL, 2006; Zittan E, 2007). De tal forma que la coexistencia de la *forma TT*, niveles bajos de Vitamina B12 e hiperhomocisteinemia marcada pueden aumentar el riesgo tromboembólico arterial, venoso o mixto (Ferrazzi P, 2005; Nadir Y, 2007; Ho CH, 2005).

El hecho de que en algunos trabajos se hayan obtenido beneficios vasculares con el tratamiento combinado oral de Cobalamina y ácido fólico plantea el interés de estudiar tanto el genotipo del polimorfismo del gen de la enzima 5,10-MTHFR como los niveles plasmáticos de Vitamina B12 en sujetos seleccionados, p.e aquellos con hiperhomocisteinemia moderada o severa y disfunción endotelial (Zittan E, 2007).

B. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

El déficit de Vitamina B12 es frecuente, especialmente en pacientes mayores y muchas veces no se asocia a manifestaciones clínicas evidentes. En nuestro medio existen pocos estudios de prevalencia sobre este déficit vitamínico tanto a nivel ambulatorio, como hospitalario. Tampoco se conocen bien las causas que lo propician. Dicho déficit suele asociarse con una elevación de los niveles de la homocisteína plasmática, conocido factor de riesgo cardiovascular. Por otra parte, la mutación C677T del gen de la enzima Metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR), enzima clave en el metabolismo de la homocisteína, también se asocia a hiperhomocisteinemia con relativa frecuencia. Sin embargo, en los pacientes con déficit de Vitamina B12 no se conoce bien la influencia de la presencia de esta mutación sobre las manifestaciones clínicas de dicho déficit y las posibles consecuencias derivadas. Por ello nos planteamos el presente estudio con los siguientes objetivos:

Objetivos Generales

- 1.- Estudiar la prevalencia del déficit de Vitamina B12 en pacientes mayores hospitalizados.
- 2.- Analizar la relación entre los polimorfismos del gen de la enzima 5,10-Metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) y la deficiencia de Vitamina B12.

Objetivos Específicos

- 1.- Determinar la prevalencia de déficit de Vitamina B12 en pacientes mayores de 60 años hospitalizados en un servicio de Medicina Interna. Analizar la relación con la edad y género.
- 2.- Realizar un análisis bibliográfico de la literatura sobre la prevalencia de déficit de Vitamina B12.
- 3.- Describir las alteraciones clínicas y analíticas relacionadas con el déficit de la Vitamina B12 y efectuar una aproximación etiológica.

- 4-** Evaluar la prevalencia de las formas genotípicas del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR en pacientes con déficit de Vitamina B12 en relación con un grupo control.
- 5.-** Analizar si las formas genotípicas anómalas de la enzima 5,10-MTHFR se relacionan con menores niveles de Vitamina B12.
- 6.-** Evaluar la prevalencia de hiperhomocisteinemia en pacientes con déficit de Vitamina B12 y compararla con la prevalencia en un grupo control.
- 7.-** Analizar si la coexistencia de formas anómalas del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR se relaciona con mayores cifras de homocisteína plasmática en pacientes con déficit de Vitamina B12.
- 8.-** Evaluar si existen diferencias en cuanto a la presencia de patología cardiovascular, reingresos y mortalidad entre los pacientes con déficit de Vitamina B12 y formas anómalas del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR con respecto a la forma CC.
- 9.-** Analizar la relación entre el valor de la Vitamina B12 y la mortalidad.

C. PACIENTES Y MÉTODO

PACIENTES Y MÉTODO

1.- Descripción del estudio

El estudio consta de dos partes diferentes, con distinto diseño para la consecución de cada uno de los dos objetivos generales planteados.

En la primera parte se realiza un estudio descriptivo transversal para establecer la prevalencia del déficit de Vitamina B12 en pacientes hospitalizados en el Servicio de Medicina Interna de un hospital de tercer nivel.

En la segunda parte, realizada posteriormente, se realiza un estudio de casos – control, siendo los casos una serie de pacientes hospitalizados en los que se diagnostica un déficit de Vitamina B12, en los cuales se evalúa la presencia de la mutación C677T del gen de la enzima Metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) comparándose con un grupo control.

2.- Población

La población a estudio corresponde al área de Salud Norte de Las Palmas de Gran Canaria. Se trata de pacientes que ingresaron en el Servicio de Medicina Interna del Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín y que cumplían los criterios de inclusión que se exponen a continuación. Este Servicio tiene asignadas 96 camas de hospitalización para una población de referencia de aproximadamente 450.000 habitantes residentes.

3.- Muestra. Primera parte del estudio

Para el cálculo del tamaño de la muestra se consideró una prevalencia de déficit de Vitamina B12 del 15% de la población, con un nivel de confianza del 95% y una precisión de 0,04, por lo que para tener un tamaño significativo de la muestra, se necesitaban 306 pacientes. Finalmente fueron estudiados 350 pacientes.

A. Criterios de inclusión

1. Paciente ingresado en Medicina Interna por cualquier motivo con edad igual o superior a 60 años.

B. Criterios de exclusión

1. Creatinina en plasma igual o mayor de 2 mg/dL, por la posibilidad de falsa elevación del valor de homocisteína (Hcy) y ácido metilmalónico (AMM).
2. Fallecimiento o abandono de la hospitalización en las 48 horas iniciales (antes de concluir los análisis de laboratorio y anamnesis completa).

No se excluyeron a los pacientes con diagnóstico previo de déficit de Vitamina B12.

4.- Muestra. Segunda parte del estudio

Tras la finalización de la primera parte del estudio se recogieron de forma consecutiva 119 pacientes hospitalizados en el Servicio de Medicina Interna diagnosticados de déficit de Vitamina B12 durante el ingreso.

5.- Técnica de muestreo

La inclusión de los pacientes, en ambas partes del trabajo se realizó mediante *muestreo consecutivo*.

6.- Variables analizadas

a) En todos los pacientes se recogieron las siguientes variables:

- Edad y sexo.
- El *motivo de ingreso* en planta de hospitalización.
- *Antecedentes personales* incluyendo la presencia de diabetes mellitus, hipertensión arterial (HTA), cardiopatía (valvular, isquémica, arritmogénica, o hipertensiva), enfermedad obstructiva pulmonar crónica (EPOC), nefropatía, enfermedad cerebrovascular aguda, arteriopatía periférica,

hepatopatía, neoplasia, ulcus péptico, depresión, demencia, artropatía, enfermedad de Crohn, pancreatitis crónica y resección gástrica ó ileal.

- *Hábitos tóxicos*: consumo activo o pasado de tabaco y/o alcohol.
- *Tratamiento farmacológico previo* (con especial énfasis en el consumo de inhibidores de la bomba de protones o antagonistas de los receptores H₂, antidiabéticos orales tipo metformina y anticonvulsivantes)
- *Determinaciones analíticas* en protocolo de ingreso hospitalario incluyendo la hemoglobina (Hb), hematocrito (Hto), volumen corpuscular medio (VCM), amplitud de distribución eritrocitaria (ADE), velocidad de sedimentación glomerular (VSG), leucocitos totales y porcentaje de linfocitos, plaquetas, creatinina, bilirrubina total (BT), lactato deshidrogenasa (LDH), fosfatasas alcalinas (FA), gamma glutamil transferasa (GGT), proteínas totales, albúmina, T4 libre (T4L), hormona tiroestimulante (TSH), patrón de hierro (sideremia, transferrina, índice de saturación de transferrina (IST) y ferritina), colesterol total y fracciones c-LDL y c-HDL, proteína C Reactiva (PCR), Vitamina B12 y ácido fólico.

Los métodos empleados fueron los siguientes:

Hemograma:

Con el analizador automático CELL-DYN® 4000 (Abbott científica S.A) se obtuvieron los siguientes parámetros:

- *Leucocitos totales*, contados, diferenciados y clasificados por medio de dispersión óptica con láser y fluorescencia. Se definen así el número de leucocitos totales / μ L y de linfocitos / μ L.
- *Hemoglobina*: Se analiza colorimétricamente con un reactivo sin cianuro.
- *Hematocrito y volumen corpuscular medio*: Calculados de los datos de distribución del conteo de glóbulos rojos, que a su vez se realiza por impedancia eléctrica.
- *Plaquetas*: Se analizó de forma doble por óptica y por luminiscencia.

Bioquímica:

Con el analizador Cobas (Roche Diagnostics) se obtuvieron los siguientes datos:

- *Creatinina*: Mediante método enzimático.
- *Glucemia*: Por el método enzimático hexoquinasa.
- *Vitamina B12 y ácido fólico*: Por electroquimioluminiscencia (ECLIA).
- *Homocisteína total*: Inmunoturbidimetría.
- *Acido Metilmalónico*: Cromatografía de gases-Espectrometría de masas.
- *Proteínas totales*: Método Biuret punto final.
- *Ferritina*: Electroquimioluminiscencia (ECLIA).
- *Transferrina*: Turbidimetría.
- Colesterol total, HDL y triglicéridos: método enzimático.
- *Colesterol LDL*: estimación mediante la fórmula de Friedwald si los triglicéridos son menores de 300 mg/dL.
- *Hormonas*: Con el analizador INMULITE® 2000 (DPC) se obtuvo la T4 libre y la hormona tirotrópica (TSH), ambas por quimioluminiscencia.
- *Albumina sérica*: Con el analizador DADE BEHRING. BN II® mediante nefelometría.
- *Ferritina*: Test inmunológico in vitro (técnica sándwich).
- *Índice de saturación de la Transferrina (IST)*: Se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{Saturación de Transferrina} = \frac{\text{Hierro sérico } (\mu\%)}{\text{TIBC } (\mu\%)}$$

TIBC: capacidad de fijación total de hierro.

- *AST (Aspartato aminotransferasa)*: Test ultravioleta, sin activación piridoxalfosfato. Por la IFCC (Federación Internacional de Química Clínica).
- *ALT (Alanina aminotransferasa)*: Test ultravioleta, sin activación piridoxalfosfato según la IFCC (Federación Internacional de Química Clínica).
- *Fosfatasa alcalina*: Test colorimétrico-enzimático.
- *LDH (Lactato deshidrogenasa)*: Test colorimétrico-enzimático.

Mediante los autoanalizadores ARCHITECT.i2000sr y ARCHITECT c8000 de ABBOTT Diagnostics se analizaron los siguientes parámetros:

- *GGT (Gammaglutamiltransferasa)*: Test colorimétrico-enzimático. Por el autoanalizador ARCHITECT.i2000sr. ABBOTT Diagnostics.
- *T4 libre y TSH (Thyroid stimulating hormone)*: Método de inmunoquimioluminiscencia de micropartículas (CMIA).
- *Albúmina sérica*: Método colorimétrico, verde de bromocresol. ARCHITECT c8000. ABBOTT Diagnostics.

b) En los pacientes con déficit de Vitamina B12 analítico se recogieron además:

- La presencia de *manifestaciones digestivas* asociadas al déficit de Vitamina B12 como glositis o dispepsia.
- La presencia de *manifestaciones neurológicas* como parestesias, déficit sensitivo, dificultad para la marcha, olvidos o deterioro cognitivo, entre otros.
- Las siguientes *determinaciones analíticas*: Ácido fólico y Vitamina B12 de control, ácido metilmalónico (AMM), homocisteína (Hcy), anticuerpos anti-factor intrínseco y anti-células parietales y serología de *Helicobacter pylori*.
- Según lo considerara el médico responsable del paciente se indicó la realización de endoscopia digestiva alta (EDA).

Para establecer el diagnóstico de déficit de Vitamina B12, déficit de folato y/o hiperhomocisteinemia se establecieron los siguientes criterios:

Parámetros analíticos	Criterios diagnósticos de deficiencia
Vitamina B12	2 determinaciones consecutivas en plasma <200 pg/mL
Folato	1 determinación en plasma <3 ng/mL
Homocisteína	1 determinación en plasma >15 µmol/L

En los 119 pacientes con déficit de Vitamina B12 incluidos en la segunda parte del estudio, se realizó además estudio genético para el polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-Metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR).

7.- Grupo control (segunda parte del estudio)

El grupo control para el estudio genético del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR, estuvo constituido por 117 individuos sanos obtenidos de forma aleatoria de una de las bases de datos de la Unidad de Investigación del mismo hospital, los cuales ya tenían realizado este estudio genético, con una distribución del sexo en porcentaje similar. Estos controles presentaron niveles normales en plasma de Vitamina B12, ácido fólico, hemoglobina, hematocrito y creatinina.

Dado que el polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR es un rasgo hereditario no se consideró la edad de los controles en su selección.

8.- Seguimiento de los pacientes

En ambos grupos de pacientes se realizó un seguimiento durante 4 años a través del sistema informático interno del hospital (Tabaiba® y Plan Día), así como el portal web www.necropolis.com. Dichas aplicaciones sirvieron para comprobar si los pacientes seleccionados habían reingresado en planta de hospitalización y/o si habían fallecido. Se analizó en todos los casos si el motivo del fallecimiento había sido por evento cardiovascular o no.

9.- Amplificación por PCR y análisis de la mutación C677T del gen de la enzima 5,10- Metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR)

9.1.- Extracción del ADN por el método de Salting out

Para la extracción del ADN de los 119 pacientes con déficit de Vitamina B12 e individuos sanos del grupo control se utilizó el protocolo de extracción de ADN conocido con el nombre de *Salting out* (**Figura 12**).

Esta técnica fue descrita originariamente por Miller & John y cols. (Miller SA, 1988; John SW, 1991) y modificado por Lahiri y Nurnberger (Lahiri DK, 1991). En nuestro caso utilizamos 500 µL de sangre periférica anti-coagulada con EDTA que se transfirió a microtubos de 10 µL en los que se añadió 3 µL de RBCL (del inglés, red blood cell

lysis - lisis celular de glóbulos rojos), compuesto de 10 mM Tris-HCl, 400 mM NaCl 2 mM, Na₂EDTA y pH 8,2 (**Foto 4**).

Los microtubos se agitaron durante 15 minutos y se centrifugaron durante 2 minutos a 14.000 xg. El sobrenadante se desechó y el proceso se repitió en varias oportunidades hasta obtener un precipitado claro, sin trazas de hemoglobina. Después, se añadió a las muestras 80 µL de tampón de Proteinasa K®, 40µL de Proteinasa K® 20U/mg (Invitrogen, Carlsbad, CA, EE.UU), 20µL de SDS® (Dodecil sulfato sódico, Sigma Chemical C, Steinheim, Alemania) en 20v/ve 240µL de agua ultrapura con homogeneización en agitador Vortex durante 15 segundos.

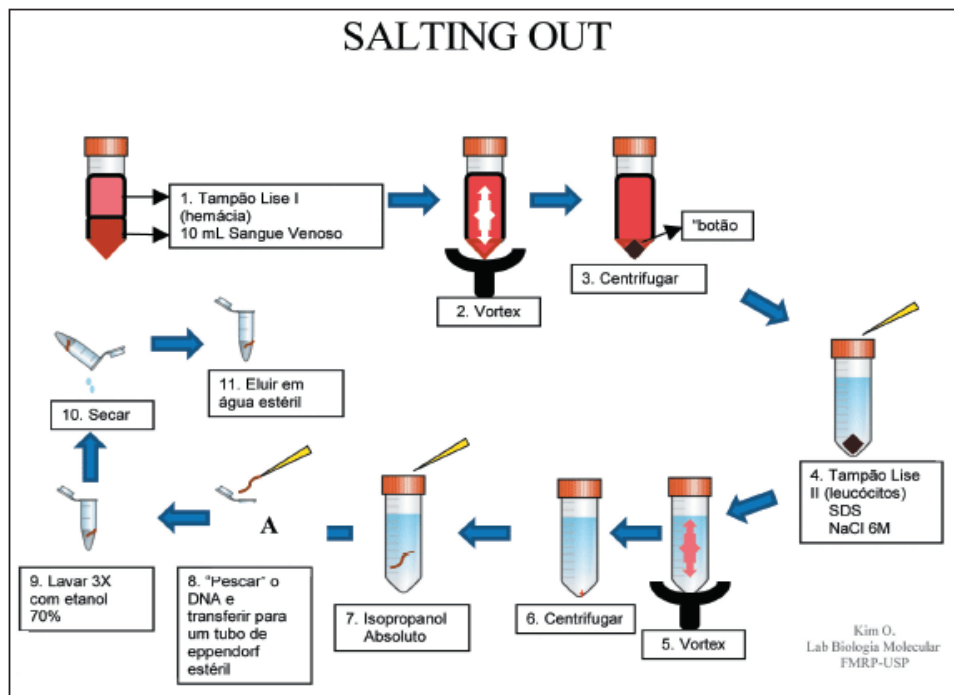
Posteriormente, los microtubos se incubaron en un baño de agua a 56° C durante 40 minutos con agitación suave durante 20 minutos y se retiraron después para alcanzar la temperatura ambiente. Se añadieron 100 µL de NaCl saturado (6M) con agitación nuevamente en Vortex y centrifugación durante 5 minutos a 14.000xg.

El sobrenadante se transfirió a otro microtubo que contenía 100 µL de NaCl (6M), que se centrifugó durante 5 minutos a 14.000 xg. A continuación, se transfirió a otro microtubo de 15 µL, al que se añadieron 800µL de etanol absoluto frío. Los tubos son vertidos e invertidos suavemente varias veces para conseguir la precipitación del ADN y se centrifugaron a 14.000 xg durante 2 minutos. Se descartó el sobrenadante y se añadió a las muestras 500µL de etanol de 70 V/v frío, seguido de una centrifugación adicional a 14.000xg durante 2 minutos. Posteriormente, se descartó nuevamente el sobrenadante y se dejaron reposar los microtubos durante varias horas a temperatura ambiente. Por último, se procedió a la hidratación del ADN con 50 µL de agua ultrapura (**Figura 12**).

En comparación con el método clásico de extracción de ADN por precipitación con sales, se realizaron algunas modificaciones por el estado de coagulación que presentaban muchas de las muestras de sangre de los pacientes incluidos en el estudio.

Así, en las a muestra de sangre coagulada se requirió un tratamiento de choque térmico para conseguir la solubilización del coágulo, así como un mayor volumen de RCLB y mucho más tiempo de agitación en el Vórtex, para conseguir con éxito eliminar todos los eritrocitos.

Figura 12. Extracción del DNA de sangre periférica por el método de Salting out.



Fuente: Roselino AM. Biología molecular aplicada às dermatoses tropicais. An Bras Dermatol 2008; 83 (3): 187-203.

9.2.- Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR)

La Reacción en Cadena de la Polimerasa conocida como PCR por sus siglas en inglés (Polymerase Chain Reaction) fue desarrollada en 1987 por Kary Mullis (Mullis KB, 1987). Es una técnica "in vitro" que imita la habilidad natural de la célula para duplicar el ADN (Mullis KB, 1990; Bartlett JM, 2003).

Existen varios tipos de PCR, siendo la *PCR-RFLP* (Polymerase Chain Reaction Restriction Fragment Length Polymorphism) la que se lleva a cabo en la Unidad de Investigación de nuestro hospital. Esta técnica radica en el corte con endonucleasas de restricción de los productos amplificados por PCR.

El objetivo de esta técnica es crear un gran número de copias de ADN a partir de un fragmento de ADN particular. De esta forma conseguimos mucho más material para llevar a cabo el estudio genético (**Figura 13**).

A. Reactivos

Para realizar la técnica se utilizaron:

1.- Los 4 *desoxirribonucleósidos-trifosfato* (dNTP), a saber: dATP, dGTP, dCTP y dTTP, sustratos para polimerizar nuevo ADN.

2.- Dos *cebadores o iniciadores* (en inglés, primers), oligonucleótidos sintéticos (P1 y P2) que son, cada uno, complementarios a una de las dos hebras del ADN. Son secuencias cortas de 6-40 nucleótidos, que permiten que la polimerasa inicie la reacción. Se sitúan enfrentados y a no mucha distancia. Delimitan la zona de ADN a amplificar.

3.- *Iones*. Se utilizan *iones divalentes* como el Magnesio (Mg^{2+}), agregado como Cloruro de Magnesio ($MgCl_2$). Actúan como cofactores de la polimerasa. Además, *iones monovalentes*, como el Potasio.

4.- Una *solución tampón* (o *buffer*, en inglés) que mantiene el pH adecuado para el funcionamiento de la ADN polimerasa (**Figura 12**).

5.- *ADN polimerasa* tipo Taq que es termoestable.

6.- *ADN molde*, que contiene la región de ADN que se va a amplificar.

7.- *Termociclador Mastercycle 5330*, aparato que va a mantener la temperatura necesaria en cada una de las etapas que conforman el ciclo de amplificación (**Foto 5**).

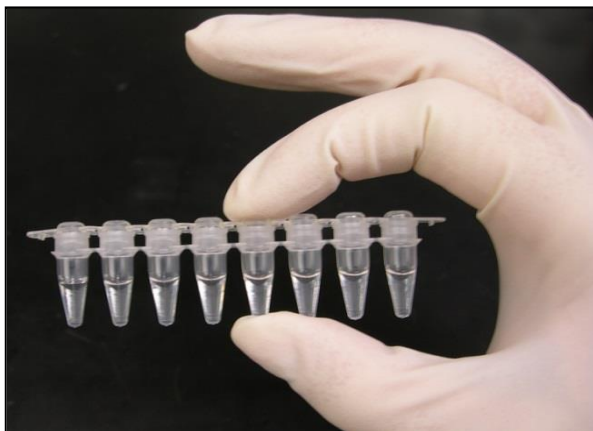


Foto 4, izquierda. Tubos de PCR que albergan la mezcla en un volumen total de 10 μ L. **Foto 5, derecha.** Termociclador Mastercycle 5330.

B. Ciclo de amplificación

El proceso de PCR consiste en una serie de 20 a 35 cambios repetidos de temperatura llamados ciclos. Cada ciclo consiste en 2-3 pasos a diferentes temperaturas.

Los pasos de los ciclos están precedidos por un choque térmico (llamado “hold”) a alta temperatura ($>90^{\circ}\text{C}$), y seguido por otro hold al final del proceso para la extensión del producto final.

Se realizaron los siguientes pasos:

1. Desnaturalización:

Primeramente, se desnaturaliza el ADN a una temperatura de $94-95^{\circ}\text{C}$.

2. Alineamiento o unión del cebador:

A continuación, se produce la hibridación del cebador, es decir, el cebador se unirá a su secuencia complementaria en el ADN molde. Para ello, es necesario bajar la temperatura a $40-68^{\circ}\text{C}$ durante 20-40 segundos permitiendo así el alineamiento. Los cebadores actúan como límites de la región de la molécula que va a ser amplificada.

3. Extensión o elongación de la cadena:

Actúa la ADN polimerasa, tomando el ADN molde para sintetizar la cadena complementaria y partiendo del cebador como soporte inicial necesario para la síntesis de nuevo ADN. La polimerasa sintetiza una nueva hebra de ADN complementaria a la hebra molde añadiendo los dNTP complementarios en dirección $5' \rightarrow 3'$, uniendo el grupo 5'-fosfato de los dNTP con el grupo 3'-hidroxilo del final de la hebra de ADN creciente. Para la polimerasa Taq, la temperatura de máxima actividad está en $75-80^{\circ}\text{C}$. Alcanzada la temperatura óptima, se polimerizan mil bases en un minuto.

4. Elongación final:

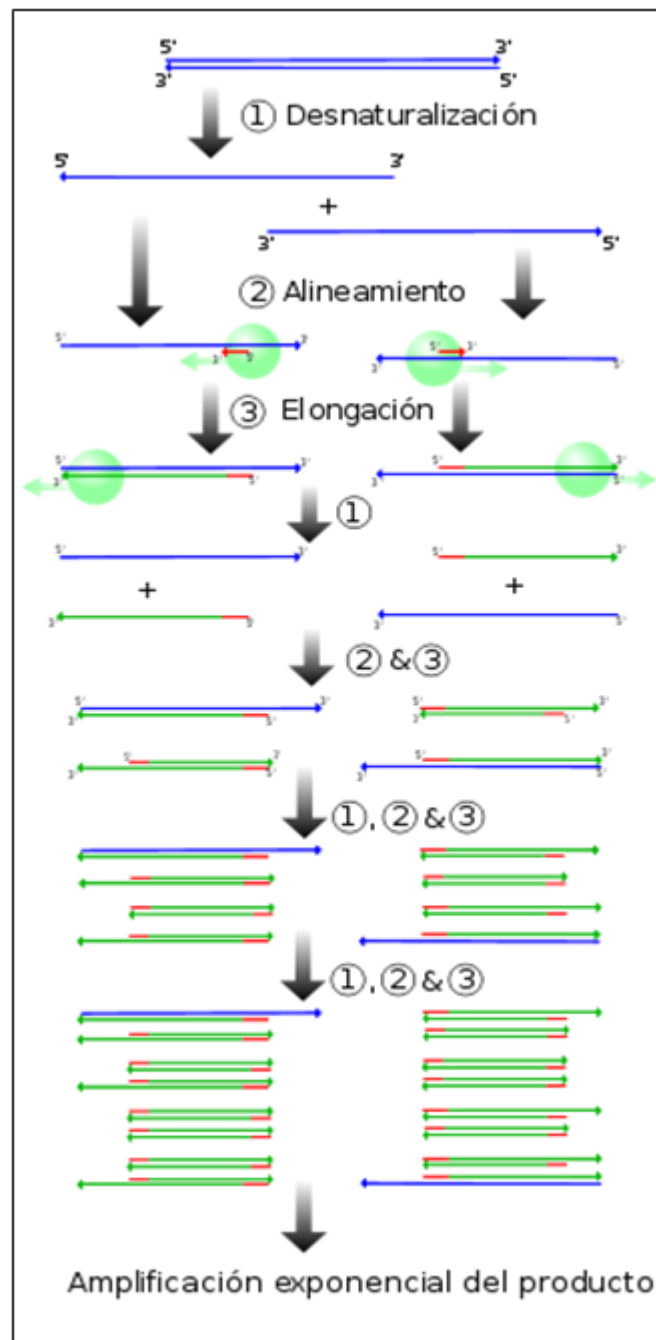
Etapa única que se lleva a cabo a una temperatura de $70-74^{\circ}\text{C}$ durante 5-15 minutos tras el último ciclo de PCR. Con ella se asegura que cualquier ADN de cadena simple restante sea totalmente ampliado.

5. Conservación:

Este es un paso que se lleva a cabo a 4-15° C durante un tiempo indefinido para conservar la reacción a corto plazo. La PCR se realiza con un volumen de reacción de 15-100 µL, en pequeños tubos de 0,2-0,5 mL que se colocan en el termociclador. Para verificar que la PCR ha generado el fragmento de ADN previsto, se emplean técnicas de electroforesis, que separan los fragmentos de ADN generados de acuerdo a su carga, esto es, longitud, y, en menor medida a su tamaño.

En nuestro caso, se empleó la electroforesis en gel de agarosa al 3%. El/los tamaño/s de los productos de la PCR vienen determinados por un marcador de peso molecular de ADN, el cual contiene fragmentos de ADN de tamaño conocido, y que se corre en el gel junto con los productos de PCR.

Figura 13. Representación esquemática de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

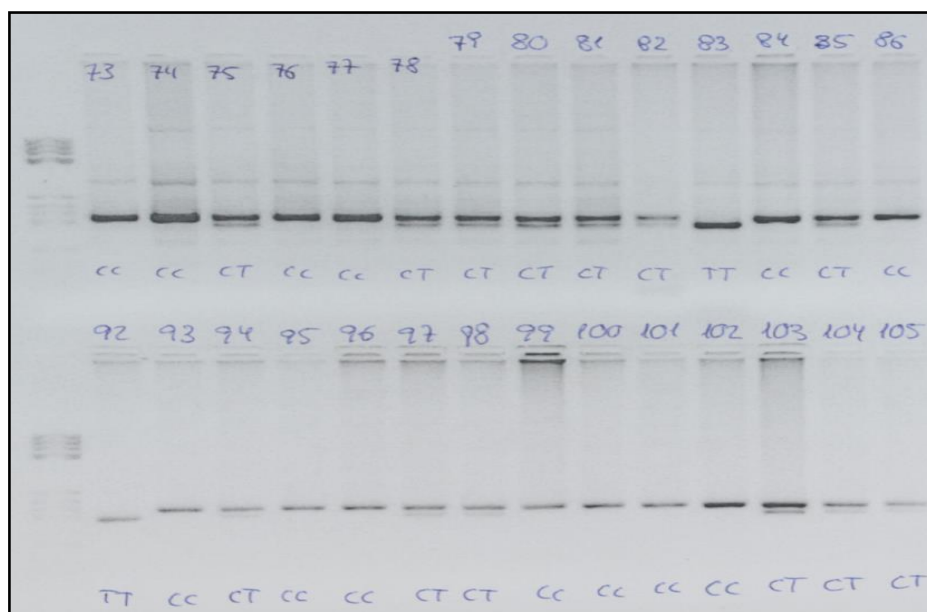


Fuente: Rodriguez N. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y otras técnicas moleculares en el estudio de afecciones dermatológicas. Disponible en: <http://piel-l.org/libreria/item/1074>

9.3- Genotipado del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR

El genotipado del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-Metilentetrahidrofolato Reductasa (MTHFR) se realizó siguiendo el protocolo descrito por Frosst et al. (Frosst P, 1995). Los primers ó cebadores utilizados fueron los siguientes: sentido (5' TgA Agg AgA Agg TgT CTg Cgg gA 3') y antisentido (5' Agg Acg gTg Cgg TgA gAg Tg 3'). Se obtuvo un fragmento de 198 pares de bases y fueron digeridos 5 uL del producto de PCR usando 1U de endonucleasa *Hinf I* durante 12 horas a 37° C. La presencia del polimorfismo C677T crea un sitio de clivaje en esta posición (5' GiANT C3' / 3' CTNAT G5'), resultando en la formación de dos fragmentos, uno de 175 y uno de 23 pares de bases (pb) cuando el alelo imitado (677T) está presente. En presencia del alelo normal, se observa solamente la banda de 198 pares de bases, ya que no estará presente ningún sitio de reconocimiento para la enzima *Hinf I*. Los heterocigotos presentan un alelo normal y otro alterado, por lo tanto aparecerán las bandas de 198, 175 y 23 pares de bases. El control positivo de la digestión se realizó con una muestra de homocigoto alterada 677TT previamente genotipada. Los resultados fueron visualizados en electroforesis en gel de agarosa al 3% (FMC Bioproducts, Lichfield, UK) y tinción de bromuro de etidio y coloreada con nitrato de plata. Los registros se realizaron a través de scanner digital (**Foto 6**).

Foto 6. Genotipos de los pacientes con déficit de Cobalamina (del nº 73 al 105) obtenidos por análisis de PCR en gel de agarosa al 3% para el diagnóstico de la mutación C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR.



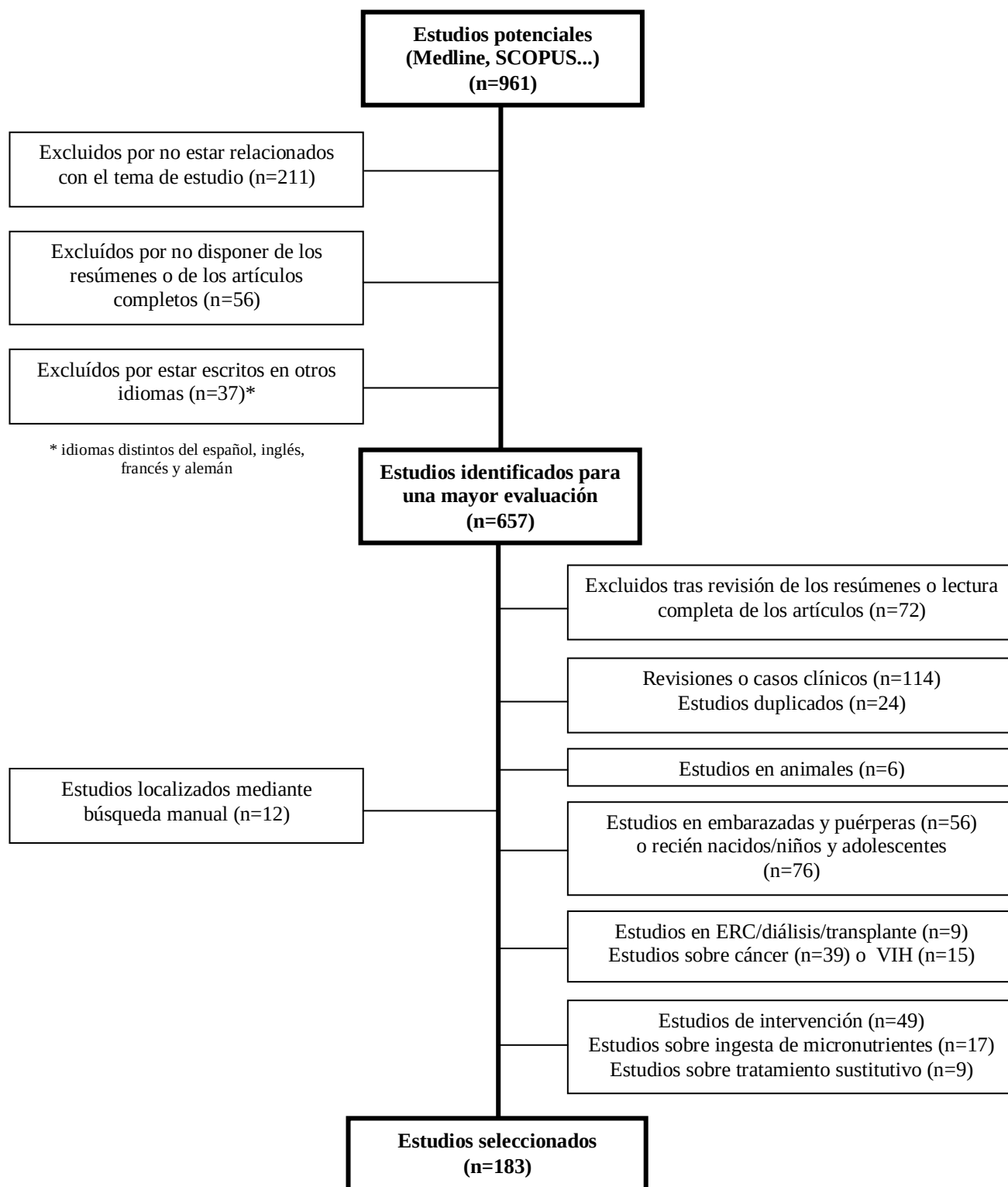
10.- Análisis bibliográfico

Se realizó un análisis de las referencias bibliográficas encontradas en MEDLINE, SciELO, Web of Science y SCOPUS. Se efectuó una búsqueda de los estudios publicados a partir del 1 de enero de 1990 hasta el 31 de diciembre de 2012. Se seleccionaron sólo aquellos artículos publicados en español, inglés, francés o alemán.

La estrategia de búsqueda se basó en las palabras clave en inglés “Vitamin B12 deficiency”, “cobalamin deficiency”, “vitamin deficiencies”, “nutritional status”, en combinación con “prevalence”, “elderly patients” y “hospitalized patients”. Inicialmente, se consideraron todos los estudios realizados en individuos mayores de 14 años (clásicamente, límite de edad de atención pediátrica). Se excluyeron aquellos estudios realizados en embarazadas y puérperas, enfermos renales crónicos, en diálisis o ya trasplantados, al igual que los estudios realizados en pacientes con patologías tumorales o infectados por VIH. Asimismo se descartaron los estudios de intervención, de ingesta dietética de micronutrientes o tratamiento sustitutivo así como aquellos en los que no fue posible conseguir el resumen o el artículo completo.

La revisión bibliográfica se completó con una búsqueda manual de las referencias bibliográficas de las revisiones identificadas en la estrategia de búsqueda **(Figura 14)**.

Figura 14. Diagrama de flujo sobre la selección de estudios.



Abreviaturas: **ERC:** Enfermedad renal crónica. **VIH:** Infección del virus de la inmunodeficiencia humana.

11.- Análisis estadístico

El análisis de los datos recogidos se realizó con el programa estadístico SPSS (Statistical Package for Social Sciences), versión 16.0 para Windows (Chicago. IL, USA). Inicialmente se realizó un *análisis descriptivo*, presentándose las variables categóricas como frecuencias y porcentajes y las continuas como media y desviación estándar.

Para las variables cuantitativas se analizó si seguían una distribución normal o no mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. Se estimó la prevalencia del déficit de Vitamina B12 con su correspondiente intervalo de confianza al 95%. Se analizaron las diferencias clínicas y analíticas entre los pacientes con déficit de Vitamina B12 y sin déficit. La relación entre variables cualitativas se estudió con el test de Chi2 o el test exacto de Fisher. Para analizar las relaciones entre variables cuantitativas de los dos grupos de pacientes se utilizó el test T-Student o el test U de Mann Whitney en función de que dichas variables siguieran o no una distribución normal. La relación entre variables cuantitativas se realizó con el coeficiente de correlación de Pearson o de Spearman (en función de que la distribución de variables fuera normal o no). La relación entre variables cuantitativas de más de dos grupos se analizó mediante el análisis de la varianza utilizando posteriormente los contrastes de Scheffé.

Para comparar la supervivencia entre los pacientes con y sin déficit de Vitamina B12 se utilizó el test de Log-rank.

Se consideró un nivel de significación de $p < 0,05$.

D. RESULTADOS

RESULTADOS

PARTE PRIMERA

ESTUDIO DESCRIPTIVO. PREVALENCIA DEL DÉFICIT DE VITAMINA B12. ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO.

1. CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA

Se estudiaron **350 pacientes**, de los cuales 197 eran *mujeres* (56,3%) y 153 eran *hombres* (43,7%). La *edad media* fue de $78 \pm 8,2$ años, 79,1 años en las mujeres y 76,7 en los varones ($p=0,006$). Predominaron los pacientes comprendidos entre 71-80 años con 88 mujeres (44,7%) y 64 hombres (41,8%). Los pacientes nonagenarios estuvieron representados por 16 mujeres (8,1%) y 8 hombres (5,2%) (**Tabla 24**).

Tabla 24. Distribución de la muestra por grupos de edad y sexo (n=350)

			Rangos de edades (años)				Total
			60-70	71-80	81-90	>90	
Sexo	H	Totales	39	64	42	8	153
		% Hombres	25,5%	41,8%	27,5%	5,2%	100,0%
		% Rangos de edades	57,4%	42,1 %	39,6%	33,3%	43,7 %
	M	Totales	29	88	64	16	197
		% Mujeres	14,7%	44,7%	32,5%	8,1%	100,0%
		% Rangos de edades	42,6%	57,9%	60,4%	66,7%	56,3%
Total		Totales	68	152	106	24	350
		% Total	19,4%	43,4%	30,3%	6,9%	100,0%
		% Rangos de edades	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Abreviaturas: H: Hombres. M: Mujeres.

1.1 Prevalencia del déficit de Vitamina B12

En la muestra estudiada la *prevalencia* del déficit de Vitamina B12 fue del 13,1% (IC 95%: 9,5-16,8%) (46 casos de 350). Cinco pacientes tenían el diagnóstico previo de déficit de Vitamina B12, todas mujeres.

De los 46 pacientes con déficit de Vitamina B12, la mayoría, 30 (65,2%) presentaban niveles entre 150-200 pg/mL. Sólo 8 pacientes presentaban niveles séricos por debajo de 99,9 pg/mL (17,4%) (**Tabla 25**).

Tabla 25. Distribución de los pacientes con déficit plasmático de Vitamina B12. (n=46)

Déficit de Vitamina B12	Niveles plasmáticos	n	%
Leve	150-200 pg/mL	30	65,2
Moderado	100-149,9 pg/mL	8	17,4
Grave	≤99,9 pg/mL	8	17,4
TOTAL		46	100,0

Entre los 304 pacientes restantes, 242 pacientes (69,1%) presentaron niveles plasmáticos de Vitamina B12 entre 200-850 pg/mL y 62 pacientes con niveles superiores a 850 pg/mL o en rango de hipervitaminosis (17,7%).

En los 46 pacientes con déficit de Cobalamina predominaron los pacientes de **sexo femenino** con 32 mujeres (69,5%) y 14 hombres (30,6%), siendo más elevada casi de forma significativa la prevalencia de déficit de Vitamina B12 entre las mujeres que entre los varones (16% vs 9,3%; $p=0,06$). Sin embargo, al ajustar por la edad se perdía esta tendencia hacia la significación estadística ($p=0,41$).

La **edad media** de los pacientes con déficit de Vitamina B12 fue significativamente superior $81,5 \text{ años} \pm 7,8$, a la de los pacientes sin déficit de $77,6 \pm 8,2$ ($p=0,003$). Al ajustar la edad por el sexo se seguía manteniendo la asociación significativa entre el déficit de Vitamina B12 y la edad ($p<0,018$).

En el grupo de los pacientes con déficit de Vitamina B12 predominaron los pacientes con edades comprendidas entre los 81 y 90 años (20 pacientes, 43,4%). En todos los grupos de edad predominaron las mujeres (**Tabla 26**).

Tabla 26. Distribución de la muestra por niveles plasmáticos de Vitamina B12, rangos de edad y sexo (n=350)

RANGOS DE EDADES (años)				Rangos de niveles de Vitamina B12 (pg/mL)			Total
				<200	200-850	>850	
60-70	SEXO H	Totales		1	25	13	39
		% de Hombres		2,6%	64,1%	33,3%	100,0%
		% de Rangos B12		25,0%	54,3%	72,2%	57,4%
	M	Totales		3	21	5	29
		% de Mujeres		10,3%	72,4%	17,2%	100,0%
		% de Rangos B12		75,0%	45,7%	27,8%	42,6%
	Total	Totales		4	46	18	68
		% de SEXO		5,9%	67,6%	26,5%	100,0%
		% de Rangos B12		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
		% del total de déficit		8%			
71-80	SEXO H	Totales		5	54	5	64
		% de Hombres		7,8%	84,4%	7,8%	100,0%
		% de Rangos B12		31,3%	47,4%	22,7%	42,1%
	M	Totales		11	60	17	88
		% de Mujeres		12,5%	68,2%	19,3%	100,0%
		% de Rangos B12		68,8%	52,6%	77,3%	57,9%
	Total	Totales		16	114	22	152
		% de SEXO		10,5%	75,0%	14,5%	100,0%
		% de Rangos B12		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
		% del total de déficit		34%			
81-90	SEXO H	Totales		7	26	9	42
		% de Hombres		16,7%	61,9%	21,4%	100,0%
		% de Rangos B12		35,0%	39,4%	45,0%	39,6%
	M	Totales		13	40	11	64
		% de Mujeres		20,3%	62,5%	17,2%	100,0%
		% de Rangos B12		65,0%	60,6%	55,0%	60,4%
	Total	Totales		20	66	20	106
		% de SEXO		18,9%	62,3%	18,8%	100,0%
		% de Rangos B12		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
		% del total de déficit		43%			
Más de 90	SEXO H	Totales		1	6	1	8
		% de Hombres		12,5%	75,0%	12,5%	100,0%
		% de Rangos B12		16,7%	37,5%	50,0%	33,3%
	M	Totales		5	10	1	16
		% de Mujeres		31,3%	62,5%	6,3%	100,0%
		% de Rangos B12		83,3%	62,5%	50,0%	66,7%
	Total	Totales		6	16	2	24
		% de SEXO		25,0%	66,7%	8,3%	100,0%
		% de Rangos B12		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
		% del total de déficit		13%			

Abreviaturas: H: Hombres. M: Mujeres.

1.2 Antecedentes médicos

Los antecedentes médicos más frecuentes fueron la *hipertensión arterial (HTA)* (246, 70,3%), la *cardiopatía* sin especificar (185, 53%), la *diabetes mellitus tipo 2 (DM-2)* (145, 41,4%) y la *dislipemia (DLP)* (127, 36,7%). Al analizar los antecedentes no se encontraron diferencias significativas en los antecedentes de los pacientes en función de la presencia o no de déficit de Vitamina B12 (**Tabla 27**). Sin embargo, ningún paciente con *hepatopatía* o con *consumo de alcohol* moderado ó abusivo presentó déficit de esta Vitamina de forma casi significativa ($p=0,05$ en ambos casos) (**Tabla 27 y 28**). Así, aunque la DM-2 fue más prevalente en los pacientes con déficit que sin déficit al igual que los pacientes con antecedente de ictus que fueron más prevalentes en ese mismo grupo no se encontraron diferencias significativas (45,7% vs 40,8; $p=0,53$ y 21,7% vs 13,2%; $p=0,12$, respectivamente). Lo mismo ocurrió en relación con la *arteriopatía periférica* (13% vs 9%, $p=0,36$) y el *ulcus péptico* (8,7% vs 6,3%, $p=0,47$) (**Tabla 27**).

Tabla 27. Distribución de la muestra según antecedentes médicos y déficit ó no de Vitamina B12 (n = 350)

Antecedentes médicos	Total n=350	%	Déficit Vit. B12 ($< 200\text{pg/mL}$) n= 46	%	No déficit Vit. B12 ($> 200\text{pg/mL}$) n=304	%	p
HTA	246	70,3	32	69,5	214	70,4	0,90
Cardiopatía:	185	53	22	47,8	163	53,6	0,46
• C. Isquémica	108	31	11	24	97	32	0,27
• C. Valvular	51	14,6	6	13	45	14,8	0,75
• C. Hipertensiva	48	13,8	6	13	42	14	0,88
DM-2	145	41,4	21	45,7	124	40,8	0,53
DLP	127	36,6	12	26,1	115	37,8	0,12
Arritmias	95	27	13	28,3	82	27	0,85
Artritis	82	23,4	11	24	71	23,4	0,93
Neoplasias	73	21	10	22,2	63	20,7	0,81
Broncópatas:	69	19,7	9	19,6	60	19,7	0,97
• EPOC	41	11,7	4	8,7	37	12,2	0,49
Demencias	51	14,6	4	8,7	47	15,5	0,22
Ictus	50	14,3	10	21,7	40	13,2	0,12
Arteropatía periférica	33	9,4	6	13	27	9	0,36
Úlcus péptico	23	6,6	4	8,7	19	6,3	0,47
Hepatopatías:	22	6,3	0	-	22	7,2	0,05
• VHC	9	2,6	0	-	9	3	0,23
Depresión	17	5	4	8,7	13	4,3	0,19
Hipotiroidismo	16	4,6	3	6,5	13	4,3	0,49
Tuberculosis	15	4,3	2	4,3	13	4,3	0,98
Pancreatitis	5	1,5	0	-	5	1,4	0,38
Hipertiroidismo	1	0,3	0	-	1	0,3	0,69

Abreviaturas: HTA: Hipertensión arterial. DM-2: Diabetes mellitus tipo 2. DLP: Dislipemia. EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica. VHC: Virus de la hepatitis C.

1.3 Hábitos tóxicos

El *tabaquismo activo* se encontró en 26 pacientes, siendo más prevalente entre los pacientes sin déficit de Vitamina B12, pero sin alcanzar la significación estadística (2,2% vs 8,2%; $p=0,14$). El *alcoholismo activo* se documentó en 24 pacientes (7%), ninguno de ellos con déficit de Vitamina B12.

Globalmente 80 pacientes eran *ex-fumadores* (23%) y 38 pacientes *ex-bebedores* (11%) sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de pacientes con déficit y sin déficit de Vitamina B12 (**Tabla 28**).

Tabla 28. Distribución de la muestra según hábitos tóxicos y déficit ó no de Vitamina B12. (n=350)

Hábitos tóxicos:	Total n=350	%	Déficit Vit. B12 (< 200pg/mL) n=46	%	No Déficit Vit. B12 (>200pg/mL) n=304	%	p
Tabaquismo	26	7,4	1	2,2	25	8,2	0,14
Alcoholismo	24	7	0	-	24	8	0,05
Ex-tabaquismo	80	23	8	17,4	72	23,7	0,34
Ex-alcoholismo	38	11	4	8,7	34	11,2	0,81

1.4 Medicación previa al ingreso

En nuestro estudio los fármacos más usados por orden de frecuencia fueron los *diuréticos* (167, 47,7%), los *antiagregantes* (156, 44,5%), seguido de los *inhibidores de la bomba de protones (IBP)* (118, 33,7%) y los *inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAs)* (103, 29,4%).

Tomaban *metformina*, 47 pacientes (13,4%), *ranitidina* 20 pacientes (5,7%) y *anticomiciales* 13 pacientes (3,7%).

A excepción del tratamiento con IECAS (29,4% vs 15,2%, $p=0,02$), que fue menos frecuente en los pacientes con déficit no se observaron diferencias significativas en el análisis bivalente entre los pacientes con y sin déficit de Vitamina B12 (**Tabla 29**).

Tabla 29. Consumo de fármacos en la muestra y su distribución en los pacientes con déficit de Vitamina B12 y sin déficit (n=350)

Fármacos	Total n=350	%	Vit. B12 <200 pg/mL n=46	%	Vit. B12 >200 pg/mL n=304	%	p
Diuréticos:	167	47,7	20	43,5	140	46	-
- D. de asa.	104	29,7	17	37	87	28,6	0,24
- Espironolactona	18	5,1	0	-	18	6	0,09
- Otros diuréticos	45	13	3	6,5	42	14	0,16
Antiagregantes:	156	44,5	18	39	141	46	-
- AAS	112	32	15	32,6	97	32	0,92
- Clopidogrel	44	12,6	4	8,7	40	13,2	0,39
IBP:	118	33,7	19	41,3	99	32,6	0,24
- Omeprazol	88	25,1	14	30,4	74	24,3	0,37
- Otros IBP	30	8,6	5	11	25	8,2	0,55
IECAs	103	29,4	7	15,2	96	31,6	0,02
Estatinas	103	29,4	12	26,1	91	30	0,59
Beta-bloqueantes	82	23,4	11	24	71	23,4	0,93
ARA-II	80	23	15	32,6	65	21,4	0,09
Hipnóticos	77	22	13	28,3	64	21,1	0,27
Calcioantagonistas	60	17,1	9	19,6	51	16,8	0,64
Metformina	47	13,4	7	15,2	40	13,2	0,70
Anticoagulantes:	39	11	8	17,3	31	10	-
- Acenocumarol.	30	9	6	13	24	8	-
- Otros	9	2	2	4,3	7	2	-
Antidepresivos	35	10	5	11	30	9,9	-
Vitaminas:	34	10	5	11	29	9,5	
- Vit. B12	10	3	4	8,7	6	2	0,01
- Otras vitaminas	24	7	1	2,2	23	7,6	0,17
Digoxina	31	9	2	4,3	29	9,5	-
Alfa-bloqueantes	30	8,6	3	6,5	27	9	0,59
Hierro oral	29	8,3	4	8,7	25	8,2	-
Benzodiacepinas	27	7,7	6	13	21	7	-
Antiinflamatorios	23	6,6	5	11	18	6	-
Laxantes	22	6,3	2	4,3	20	6,6	0,56
Antipsicóticos	21	6	1	2,1	20	6,6	-
Ranitidina	20	5,7	2	4,3	18	5,9	0,66
Anticomiciales	13	3,7	3	6,5	10	3,3	-
Amiodarona	10	3	1	2,1	9	3	-
Antiparkinsonianos	9	2,6	2	4,3	7	2,3	-
Fibratos	5	1,5	1	2,1	4	1,3	-
Litio	1	0,3	0	0	1	0,3	-

Abreviaturas: D. de asa: Diuréticos de asa. AAS: Acido acetilsalicílico. IBP: Inhibidores de la bomba de protones. IECAs: Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina. ARA-II: Antagonistas de los receptores de angiotensina tipo II.

1.5 Motivo de ingreso

Las *causas de ingreso* más frecuentes fueron las *infecciones* con 136 pacientes (38,8%), y entre éstas las infecciones agudas de vías respiratorias altas (84, 24%). La *insuficiencia cardiaca* fue la razón de ingreso para 114 pacientes (32,3%) y con el diagnóstico de *síndrome febril* ingresaron 50 pacientes (14%). En ningún caso se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas (**Tabla 30**).

Tabla 30. Motivos de ingreso por orden de frecuencia en los pacientes con déficit de Vitamina B12 y sin déficit (n=350)

Motivos	Total n=350	%	Vit. B12 <200 pg/mL n=46	%	Vit. B12 >200 pg/mL n=304	%	P
Infecciones:	136	38,8	19	41,3	117	38,5	-
• Inf. Resp. alta	84	24	13	28,3	71	23,4	0,46
• Neumonía	27	7,7	2	4,3	25	8,2	0,35
• ITU	19	5,4	3	6,5	16	5,3	0,72
• Celulitis	6	1,7	0	-	6	2	0,33
Insuf. Cardiaca	114	32,3	17	34,8	97	32	0,73
Sdr febril	50	14,3	7	15,2	43	14,1	0,84
Sdr Coronario Agudo (SCA)	47	13,1	7	15,2	40	13,2	0,70
Sdr constitucional	40	11,4	6	13	34	11,2	0,71
Ictus	30	8,6	4	8,7	26	8,6	0,97
Sdr anémico	19	5,4	2	4,3	17	5,6	0,72
EPOC	19	5,4	3	6,5	16	5,3	0,72
Síncope	12	3,4	1	2,2	11	3,6	0,61
Hem. Digestiva:	4	1,2	0	-	4	1,4	-
• HDA	2	0,6	-	-	2	0,7	0,58
• Otras	2	0,6	-	-	2	0,7	0,58

Abreviaturas: *Inf. Resp. Alta:* Infecciones de vías respiratorias altas. *Sdr:* Síndrome. *ITU:* Infección del tracto urinario. *EPOC:* Enfermedad pulmonar obstructiva crónica. *Hem. Digestiva:* Hemorragia digestiva. *HDA:* Hemorragia digestiva alta.

1.6 Diagnósticos al alta

Los diagnósticos al alta en orden decreciente de frecuencia fueron los siguientes: la *cardiopatía* con 231 pacientes (66%), la *hipertensión arterial* con 215 pacientes (61,4%), la *anemia* con 197 pacientes (56,3%), la *desnutrición* con 166 pacientes (47,4%) y las *infecciones* con 135 pacientes (38,5%). Sin embargo, de los 46 pacientes con déficit de Vitamina B12, sólo se reflejó este diagnóstico en el informe de alta de 36 pacientes (78,2%) (**Tabla 31**).

Tabla 31. Diagnósticos al alta en función de presentar ó no déficit de Vitamina B12 (n=350)

Diagnósticos	Total n=350	%	Vit B12 (<200 pg/ml) n=46	%	Vit. B12 (> 200 pg/mL) n=304	%	p
Cardiopatía:	231	66	29	8,3	202	57,7	-
• C. Isquémica	86	24,6	11	23,9	75	24,7	0,91
• C. Valvular	70	20	10	21,7	60	19,7	0,75
• C. Hipertensiva	75	21,5	8	17,4	67	22,1	0,46
Hipertensión arterial	215	61,4	27	58,7	188	61,8	0,68
Anemia	197	56,3	32	69,6	165	54,3	0,04
Desnutrición	166	47,4	26	56,5	140	46,1	0,18
Infección:	135	38,6	20	43,5	115	37,8	0,46
• Infección respiratoria	69	19,7	13	28,3	56	18,4	0,11
• ITU	58	16,6	9	19,6	49	16,1	0,55
• Neumonía	21	6	4	8,7	17	5,6	0,40
• Sepsis	18	5,1	1	2,2	17	5,6	0,32
Diabetes Mellitus (DM)	124	35,4	14	30,4	110	36,2	0,44
ICC	122	35	17	37	105	34,5	0,74
Dislipemia (DLP)	95	27	11	24	84	27,6	0,59
Demencia	67	19,1	4	8,7	63	20,7	0,05
Arritmia (FA)	65	18,5	11	24	54	17,8	0,31
Déficit de Vitamina B12	46	13,1	36	78	-	-	-
EPOC	46	13,1	4	8,7	42	13,8	0,33
Neoplasias	46	13,1	6	13	40	13,2	0,98
Obesidad	41	11,7	5	11	36	12	0,84
Ictus	40	11,4	5	11	35	11,5	0,89
Hiponatremia	39	11,1	8	17,4	31	10,2	0,14
Hipotiroidismo	27	7,7	4	8,7	23	7,6	0,78
Hipertiroidismo	24	7	3	6,5	21	7	0,92
Enfermedad de Parkinson	13	3,7	2	4,3	11	3,6	0,80
Diarrea	8	2,3	1	2,2	7	2,3	0,95

Abreviaturas: ITU: Infección del tracto urinario. ICC: Insuficiencia cardiaca congestiva. FA: Fibrilación auricular. EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

1.7 Parámetros analíticos

El nivel de hemoglobina (Hb) medio en el grupo de pacientes sin déficit de Vitamina B12 fue de 11,6 mg/dL, mientras que en el grupo con déficit de Vitamina B12 fue de 10,7 mg/dL, siendo esta diferencia estadísticamente significativa (p=0,03). También se encontró significación estadística en los niveles de hematocrito (34,8% vs 32%, p=0,02).

Los niveles medios de Vitamina B12 en plasma en los 350 pacientes fueron de $627 \pm 863,6$ pg/mL (30-12.500 pg/mL), mientras que en los pacientes con déficit de Cobalamina la media fue de 142 pg/mL.

En relación a las cifras de *ácido fólico* en plasma, los niveles medios fueron de $8,5 \pm 5,6$ ng/mL, tanto en la muestra total de 350 como en los 46 pacientes en los que se demostró déficit de Vitamina B12. La prevalencia de déficit de ácido fólico fue del 3% (11 pacientes de 350). Sólo en cuatro pacientes se detectó un déficit combinado de Vitamina B12 y ácido fólico (1%).

Los pacientes con déficit de Vitamina B12 mostraron un valor de leucocitos en plasma significativamente menor que los pacientes sin déficit ($7426,7/\text{mm}$ vs $8830/\text{mm}$, $p=0,04$) (Tabla 32).

Tabla 32. Valores analíticos en sangre periférica en función de presentar déficit ó no de Vitamina B12 (n=350)

Parámetros	Déf. Vit. B12 <200 pg/mL n= 46	No déficit de Vit. B12 >200 pg/mL n=304	p
Hemoglobina	$10,8 \pm 2,2$ g/dL	$11,6 \pm 2,2$ g/dL	0,02
Hto	$34,8 \pm 6,3\%$	$32,6 \pm 7,2 \%$	0,03
A. fólico	$8,7 \pm 5,7$ ng/mL	$8,5 \pm 5,6$ ng/mL	0,32
Homocisteína	$30,8 \pm 29,9$ $\mu\text{mol/L}$	$21,9 \pm 16,7$ $\mu\text{mol/L}$	0,33
Leucocitos	$7426,7 \pm 3705$ $\times 10^3/\mu\text{L}$	8830 ± 4498 $\times 10^3/\mu\text{L}$	0,04
Linfocitos	$1417,8 \pm 795$ $\times 10^3/\mu\text{L}$	$1643,8 \pm 1942,7$ $\times 10^3/\mu\text{L}$	0,43
ADE	$14,3 \pm 3,3\%$	$14,3 \pm 5,5\%$	0,97
Plaquetas	$246,1 \pm 92,5$ $\times 10^3/\mu\text{L}$	$256,2 \pm 100,7$ $\times 10^3/\mu\text{L}$	0,52
Bilirrubina	$0,78 \pm 1,01$ mg/dL	$0,91 \pm 2,7$ mg/dL	0,44
LDH	$502,7 \pm 1188,2$ U/L	$366 \pm 259,4$ U/L	0,42
Fe sérico	$51,6 \pm 37,3$ $\mu\text{g/L}$	$52,9 \pm 38$ $\mu\text{g/L}$	0,86
Ferritina	$176,5 \pm 227,1$ ng/mL	240 ± 258 ng/mL	0,18

Abreviaturas: **Hto:** Hematocrito. **ADE:** Ancho de distribución eritrocitario. **LDH:** Lactato deshidrogenasa. **Fe:** Hierro sérico (sideremia).

Del total de 350 pacientes se encontraron 197 con *anemia* (56,2%) y 153 *sin anemia* (43,7%). Las **anemias** más frecuentes fueron: la anemia de trastornos crónicos con 126 pacientes (64%), anemia ferropénica (52, 26,4%), anemia megaloblástica (9, 4,6%) y 10 con anemia mixta (5%) (Tabla 33).

Entre los pacientes con déficit de Vitamina B12, 32 presentaban anemia (69,5%). En este grupo de pacientes, se demostró anemia de trastornos crónicos en 22 pacientes (48%) y anemia megaloblástica en 6 de ellos (13%) (**Tabla 33**).

Tabla 33. Comportamiento de las anemias en los pacientes con y sin déficit de Vitamina B12 (n=350)

	Total n=350	%	Vit. B12 <200 pg/mL n = 46	%	Vit. B12 >200 pg/dL n = 304	%
Anemia:	197	56,2	32	69,5	165	54,3
. Hb < 12 g/L (M)	91	26	22	48	69	22,7
. Hb < 13 g/L (H)	106	30,2	10	21,5	96	31,6
Anemia de trastornos crónicos	126	36	22	47,8	104	34,2
Anemia ferropénica	52	14,8	2	4,3	50	16,4
Anemia mixta*	10	2,9	2	4,3	8	2,6
Anemia megaloblástica	9	2,5	6	13	3	0,9
No anemia	153	43,7	14	30,4	139	45,7

Abreviaturas: H: Hombres. M: Mujeres.

**AM = Anemia por déficit de Vitamina B12 + ferropenia.*

Tres de los 5 pacientes con diagnóstico previo de déficit de Vitamina B12 presentaban anemia en el protocolo analítico de ingreso, siendo las tres de perfil de trastorno crónico.

La *anemia megaloblástica* se demostró en 6 pacientes con déficit de Vitamina B12 y en 3 pacientes sin déficit (en dos casos asociados a alcoholismo crónico y otro por déficit de folato).

1.8 Manifestaciones hematológicas

Las manifestaciones más frecuentes en los pacientes con déficit de Vitamina B12 fueron: la *trombopenia* en 12 pacientes (26%), seguida de la *macrocitosis* y la *megaloblastosis* en 4 y 2 pacientes (8,7% y 4,3%, respectivamente).

La *neutropenia* y *pancitopenia* se encontraron en 6 pacientes (3, 6,5% en ambos casos) (**Tabla 34**).

Tabla 34. Manifestaciones hematológicas relacionadas con el déficit de Vitamina B12 (n=46)

Manifestaciones hematológicas		n	%
Comunes	Macrocitosis	4	8,7
	Megaloblastosis	2	4,3
	Hipersegmentacion de neutrofilos	2	4,3
	LDH elevada	-	-
Raras	Trombocitopenia	12	26
	Neutropenia	3	6,5
	Pancitopenia	3	6,5
Infrecuentes	Anemia hemolítica microangiopática	-	-
	Microangiopatía Pseudotrombótica	-	-

Fuente: Clasificación adaptada de Andrés E. Update for nutrient-deficient anemias. Conn's Current Therapy 2012.pp 840-841.

1.9 Manifestaciones no hematológicas

Las manifestaciones no hematológicas más frecuentes en los pacientes con déficit de Cobalamina resultaron aquellas descritas en la literatura como “aún en estudio”, presentándose en 21 pacientes (45,6%).

Entre estas y en orden decreciente de frecuencia se situaron: el *deterioro cognitivo*, 8 pacientes (17, 3%), el *síndrome depresivo* (6, 13%), el *ictus* (5, 10,8%) y la *enfermedad de Parkinson* (2, 4,3%). La *glositis de Hunter* sólo se encontró en un paciente. Dentro de las manifestaciones raras, solo se encontró un paciente con *incontinencia urinaria* de etiología no filiada (**Tabla 35**).

Tabla 35. Manifestaciones no hematológicas relacionadas con el déficit de Cobalamina (n= 46)

Manifestaciones no hematológicas		n	%
Comunes/Clásicas	Neurológicas	6	13
	Polineuritis	2	4,3
	Esclerosis combinada subaguda	2	4,3
	Babinski	2	4,3
	Ataxia	0	-
	Digestivas	1	2,1
	Glositis de Hunter	1	2,1
	Ictericia	0	-
	Total	7	15,2
Raras	Incontinencia urinaria	1	2,1
	Incontinencia fecal	0	-
	Neurológicas	0	-
	Síndrome cerebeloso	0	-
	Total	1	2,1
En estudio	Neuropsiquiátricas	21	45,6
	Deterioro cognitivo	8	17,3
	Síndrome depresivo	6	13,0
	Ictus	5	10,8
	E. de Parkinson	2	4,3
	Esclerosis múltiple	0	-

Fuente: Clasificación adaptada de de Andrés E. Update for nutrient-deficient anemias. Conn's Current Therapy 2012.pp 840-841

1.10 Estudio etiológico

La *endoscopia digestiva alta* (EDA) se realizó en 4 pacientes (8,7%) con déficit de Vitamina B12 y en 27 pacientes (8,9%) sin déficit ($p=0,56$).

Macroscópicamente mediante el estudio endoscópico se describió *atrofia gástrica* en 1 paciente (25%) con déficit de Vitamina B12 y en 5 pacientes (19,2%) sin déficit ($p=0,078$). La *biopsia gástrica* se realizó en 3 pacientes (75%) con déficit y en 14 pacientes (31,9%) sin déficit de Cobalamina, ($p=0,38$). Sin embargo, la atrofia gástrica previamente descrita en los pacientes con déficit no se confirmó en la biopsia y sí en 4

de los pacientes (28,6%) sin déficit, ($p=0,38$). En ninguno de los casos se informó de la presencia de *Helicobacter pylori*.

La *displasia gástrica* se describió en 7 de los 14 pacientes sin déficit de Cobalamina en que se realizó biopsia (50%), $p=0,18$. La serología para *Helicobacter pylori* se realizó en 12 pacientes (29,3%) con déficit Vitamina B12 y en 2 pacientes (33,3%) sin éste, siendo en todos los casos negativa, $p=0,83$. El estudio baritado de esófago-estómago y duodeno sólo se realizó en 3 pacientes sin déficit de Vitamina B12 sin obtenerse resultados patológicos.

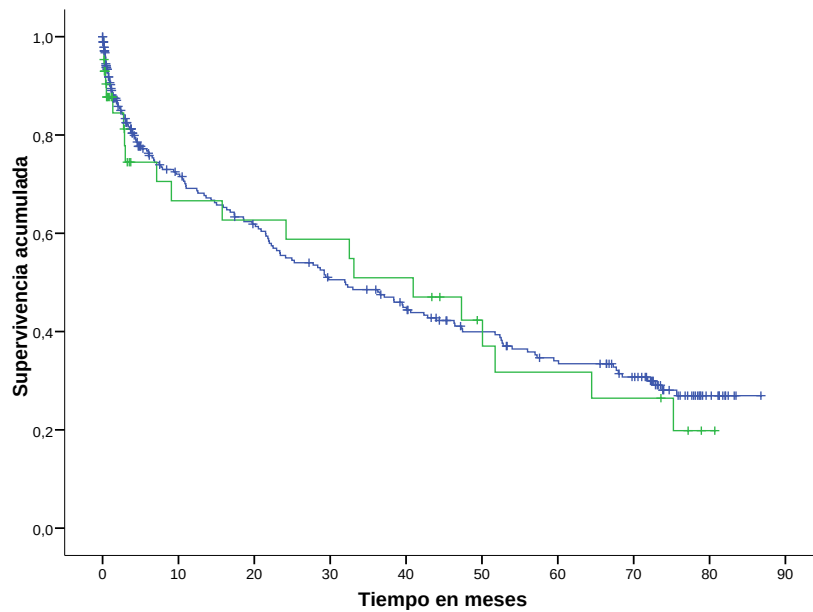
1.11 Mortalidad y reingresos

Fallecieron durante el *ingreso* 19 pacientes (16 sin déficit de Vitamina B12 vs 3 con déficit, $p=0,66$). La presencia de déficit de Vitamina B12 no se relacionó con la mortalidad ($p=0,72$).

El valor medio de la Vitamina B12 en plasma fue superior en los pacientes que fallecieron sin relacionarse de forma significativa con la mortalidad (774,4 pg/mL en los fallecidos vs 615 pg/mL en los vivos; $p=0,43$). Considerando los pacientes con valores elevados de B12 (>800 pg/mL) tampoco se observó asociación significativa con la mortalidad hospitalaria ($p=0,36$).

Durante el *seguimiento* fallecieron 179 pacientes (158 sin déficit vs 21 con déficit, $p=0,63$). Los pacientes con déficit de Vitamina B12 mostraron una supervivencia similar a los pacientes sin déficit ($p=0,69$) (**Gráfica 1**).

Gráfica 1. Gráfica de supervivencia de los pacientes con déficit y sin déficit de Vitamina B12 (n=350)

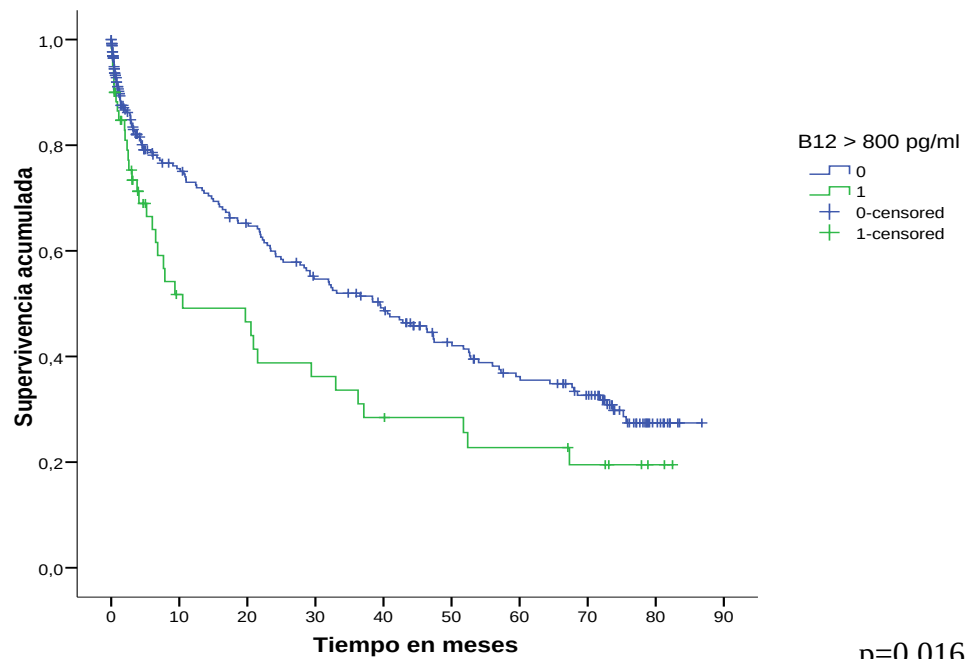


p= 0,69

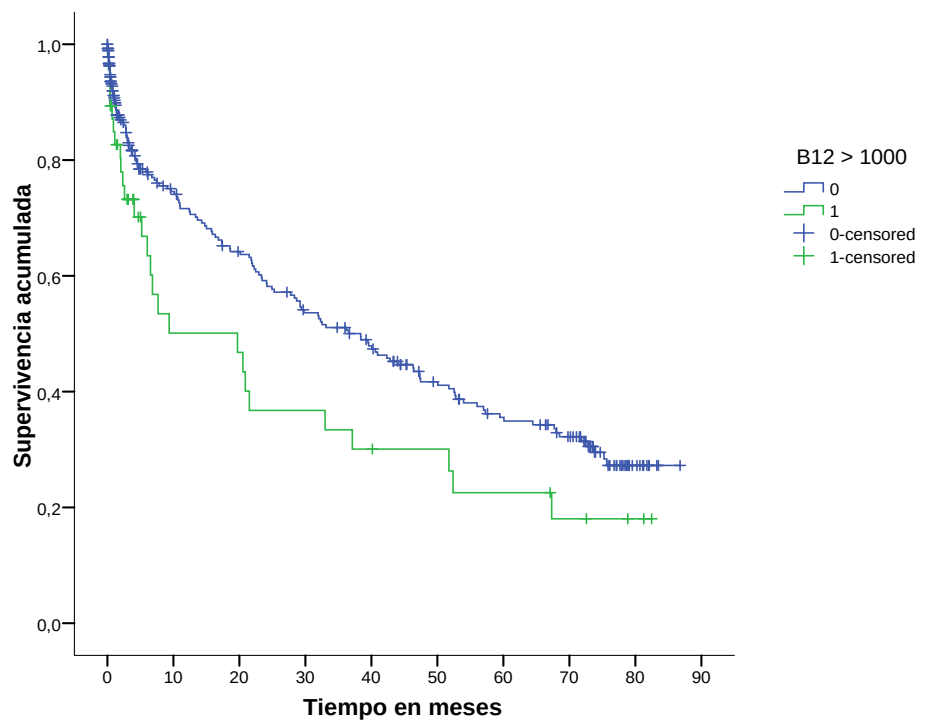
Sin embargo, los niveles elevados de Vitamina B12 plasmática (>800 pg/mL) se asociaron a una mayor mortalidad durante el seguimiento (p=0,016) (**Gráfica 2**). Esta significación se mantiene incluso tras ajuste de la edad. De igual forma se observó asociación entre la mortalidad y la elevación de los niveles de Vitamina B12 si elevamos el punto de corte a 1000 pg/mL (p=0,03) (**Gráfica 3**).

No se observaron diferencias significativas en los valores de Vitamina B12 en los pacientes que reingresaron (p=0,41).

Gráfica 2. Gráfica de supervivencia de los pacientes con niveles de Vitamina B12 en plasma mayores y menores de 800 pg/mL (n=350)



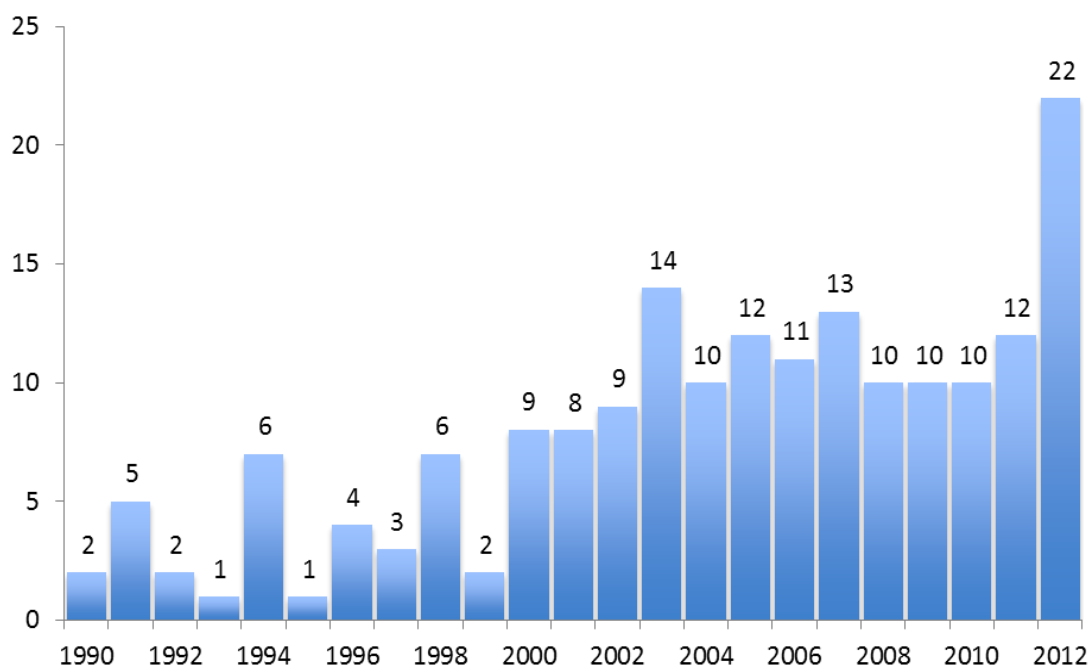
Gráfica 3. Gráfica de supervivencia de los pacientes con niveles de Vitamina B12 en plasma mayores y menores de 1000 pg/mL (n=350)



2. ANÁLISIS BIBLIOGRAFICO

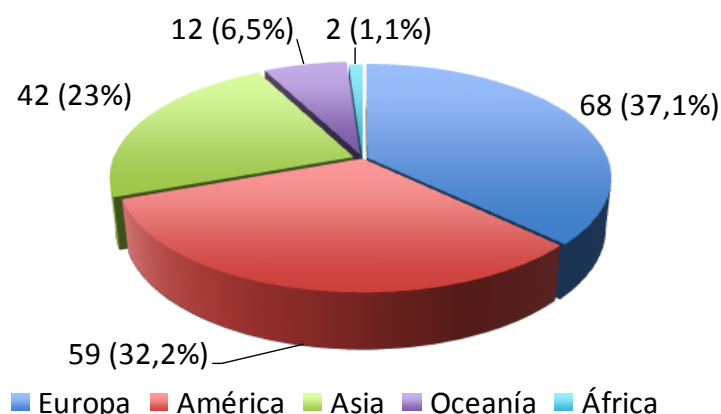
Se identificaron inicialmente 961 estudios, pero finalmente se analizaron 183 estudios. De los trabajos que se rechazaron, 211 no estaban relacionados con el objetivo de nuestro estudio; 114 eran revisiones ó casos clínicos únicos; 72 estudios fueron excluidos tras revisión de los resúmenes ó lectura completa del artículo; 76 estudios estaban realizados en individuos con edades inferiores a los 14 años y 56 estudios en mujeres gestantes ó puérperas. Otros 56 estudios no se pudieron revisar de forma íntegra al disponer únicamente del resumen ó abstract (**Figura 14**). La distribución por años se puede ver en la **gráfica 4**. Entre 1990 y 1999 se revisaron 34 estudios (18,6%), mientras que entre el 2000 y el 2012, se analizaron 149 estudios (81,4%), correspondiendo sólo al año 2012, 22 estudios (12%).

Gráfica 4. Distribución de los estudios de prevalencia de déficit de Vitamina B12 por años (1990-2012). n=183



Sólo en Europa se localizan 68 estudios (37,1%), de los cuales 20 corresponden a España. América con 59 (32,2%) y Asia con 42 (23%) le siguen en frecuencia. A continuación Oceanía con 12 estudios (6,5%) y por último el continente africano con 2 (1,1%). El país de todo el mundo que más estudios aporta es EE.UU con 37 (20,2%). Los siguientes países que participan con más estudios son España, Inglaterra y Holanda con 20, 9 y 8 estudios respectivamente (11%, 5% y 4,4% respectivamente) (**Gráfica 5**).

Gráfica 5. Distribución de los estudios de prevalencia de déficit de Vitamina B12 según continente-país (1990-2012). n=183



En relación al ámbito de estudio, 27 se realizaron en el **ámbito hospitalario** en todo el mundo (14,7%), de los cuales 5 (18,5%) se efectuaron en España (uno en la isla de Tenerife, aunque no como objetivo principal) (Viña Rodríguez JJ, 2006), y otros 5 en EE.UU (18,5%) (Bunting RW, 1990; Bell IR, 1990; Brett AS, 1994; Matchar DB, 1994; Dharmarajan TS, 1994). La distribución por orden de frecuencia se muestra en la **tabla 36**.

Tabla 36. Distribución de los estudios de prevalencia de déficit de Vitamina B12 según el ámbito (1990-2012). n=183

Tipo de estudio	n	%
Estudios ambulatorios en pacientes (mundo)	73	39,9
Estudios ambulatorios en sanos (mundo)	57	31,1
Estudios en pacientes hospitalizados	27	14,7
Estudios en pacientes diabéticos	14	7,7
Estudios en pacientes institucionalizados y ambulatorios (España)	7	3,8
Estudios ambulatorios en sanos (España)	5	2,7
TOTAL	183	100,0

Las características generales de todos los estudios se describen a continuación en las siguientes tablas, atendiendo a la clasificación previa (**Tabla 36**). Los criterios diagnósticos empleados para definir el déficit de Vitamina B12 varían entre los 103 y

los 230 pmol/L. Más del 95% de los estudios emplearon sólo como biomarcador de déficit la determinación de los niveles plasmáticos de Vitamina B12. El punto de corte más empleado fue 150 pmol/L (200 pg/mL) (85 estudios, 46,7%), similar al utilizado por nosotros (**Tablas 37-42**).

En los 27 estudios revisados en pacientes **hospitalizados**, la *prevalencia media* del déficit de Vitamina B12 fue del 14%. Si se excluyen 3 estudios que mostraron una prevalencia muy elevada (63,4%, 43%, 33%) (Iqbal MP, 2005; Arora S, 2011; van Oijen MG, 2007), la prevalencia de déficit de B12 fue del 10% (24 estudios, n=9.632). (**Tabla 37**). En estos 27 trabajos, en pacientes hospitalizados, la prevalencia del déficit de Vitamina B12 varió entre el 3,7% (Bell IR, 1990) y el 24% (Marengoni A, 2004). En 14 de los 27 estudios se utilizó el valor de 200 pg/mL (o 150 pmol/L) como punto de corte para definir el déficit de Vitamina B12 (**Tabla 37**).

En los 5 trabajos realizados en **nuestro país** en pacientes hospitalizados la prevalencia media de déficit de Vitamina B12 fue del 10% (Rodríguez Fernández S, 2005; Viña Rodríguez JJ, 2006; Mateos-Polo L, 2009; Pérez-Bocanegra C, 2009; Vega de Céniga M, 2011), oscilando entre el 6,3 % (Pérez-Bocanegra C, 2009) y el 15,7% (Vega de Céniga, 2011).

Otros estudios realizados **en España**, pero en individuos sanos observan cifras entre el 0% (Haller J, 1991) y el 12% (Aranceta J, 1994) con un promedio de prevalencia de déficit de Vitamina B12 del 6,2% (**Tabla 38**). Un estudio realizado en Canarias objetivó una prevalencia del 3,7% en el grupo de individuos entre los 18 y 64 años, mientras que en el grupo de 65 a 76 años la prevalencia fue del 8,5% (Henríquez P, 2007) (**Tabla 38**). Respecto a 5 estudios realizados en pacientes institucionalizados en nuestro país las cifras varían entre el 1,9 (Aparicio Vizuite A, 2005) y el 16,5% (Vázquez-Pedrazuela, 2012) con una prevalencia media de déficit de Vitamina B12 de un 12,1% (Huerta JM, 2004; Aparicio Vizuite A, 2005; González-Gross M, 2007; Vázquez-Pedrazuela M, 2012; Albers U, 2012).

Se revisaron 14 estudios de pacientes **diabéticos**. Sólo uno de estos estudios hacía referencia a pacientes con diabetes tipo 1 en el que la prevalencia obtenida fue del 54% (Koshy AS, 2012). En los trece estudios restantes se observa una gran variabilidad de

cifras de prevalencia del déficit de Vitamina B12 que oscilan entre el 2% (Herrmman W, 2008) y el 67% (Satyanarayana A, 2011) con una prevalencia media del 20%. En tres estudios españoles, todos ellos publicados en el año 2012, la prevalencia de esta deficiencia fue del 8,6%, 17% y 26,7% obteniéndose una prevalencia media del 17,4% (Mariño Suárez JE, 2012; Calvo Romero JM, 2012; Ouvarovskaia V, 2013). Sólo un estudio de los revisados fue de intervención (de Jager J, 2010) donde las prevalencias de niveles plasmáticos bajos de Vitamina B12 en los dos grupos de estudio variaron entre el 1,6 y 9,9% y el 2,2 y el 2,7%, respectivamente. En 8 estudios (57,1%) el punto de corte definitorio de déficit de Cobalamina fue de 200 pg/mL (**Tabla 42**).

A nivel **mundial** la prevalencia de déficit de Vitamina B12 en individuos sanos ha sido muy variable, con un promedio del 16,4% excluyendo tres estudios realizados en vegetarianos (Kwok T, 2002; Waldmann A, 2004; Gilsing AM, 2010). En nueve estudios se alcanzan prevalencias superiores al 40% (Gielchinsky Y, 2001; Refsum H, 2001; Arnaud J, 2001; Kwok T, 2002; Fora MA, 2005; Yajnik CS, 2006; Gulvadi C, 2007; Gilsing AM, 2010; Walker PF, 2011) describiéndose en uno de ellos un 75% de déficit de Vitamina B12, aunque en pacientes vegetarianas (Kwok T, 2002,). Otros 3 estudios se han realizado en la India (Refsum H 2001; Yajnik CS, 2006; Gulvadi C, 2007), con un alto porcentaje de población vegetariana y otros 3 en países muy distintos a nuestro medio como Israel (Gielchinsky Y, 2001), Cuba (Arnaud J, 2001) y China (Kwok T, 2002) (**Tabla 39**).

En relación a la prevalencia del déficit de Vitamina B12 en función del **sexo**, revisamos 25 estudios en que se analizó este aspecto. La prevalencia media en varones fue un 17,5% frente a un 14,3% en mujeres. En 16 de los 25 estudios (64%) se constató que esta deficiencia era más frecuente entre los varones. Sólo en 7, la prevalencia resultó más frecuente en mujeres (28%) (Quinn K, 1996; McNeill G, 2002; Gamble MV, 2005; Fakhrzadeh H, 2006; Thuesen BH, 2010; Arora S, 2011; Vázquez-Pedrazuela MC, 2012) (**Tabla 43**).

Tabla 37. Estudios de prevalencia de déficit de Vitamina B12 realizados en pacientes hospitalizados en el mundo (1990-2012). n=27

Autor	Año	N	Edad	Def. B12 (%)	País	Criterios diagnósticos	Ambitos
Bunting RW.	1990	250	>70	6,4	USA	Vit. B12 < 148 pmol/L	Hospitalizados
Bell IR.	1990	102	>65	3,7	USA	Vit. B12 < 150 pg/mL	Hospitalizados
Joosten E.	1993	286 (P) 64 (C)	61-97 65-98	5 6	Alemania P. Bajos	Vit. B12 < 103 pmol/L	Psiquiátricos Ambulatorios Hospitalizados
Brett AS.	1994	162	17-90	4,3	USA	Vit. B12 < 200 pg/mL	Hospitalizados Psiquiátricos
Matchar DB.	1994	1599	¿?	5,2	USA	Vit. B12 < 180 pg/mL	Ambulatorios y hospitalizados
Stott DJ.	1997	472	63-101	13	R. Unido	Vit. B12 < 175 pmol/L	Ambulatorios y hospitalizados
Andrès E.	1998	¿?	65-98	5	Francia	Vit. B12 < 150 pmol/L	Hospitalizados
Silver H.	2000	644	¿?	18,9	Israel	Vit. B12 < 200 pg/mL	Hospitalizados Psiquiátricos
Dharmarajan TS.	2000	466	65-102	6	USA	Vit. B12 < 200 pg/mL	Hospitalizados
Chui CH.	2001	3741	>70 <70	6,6 4,5	China	Vit. B12 < 140 pmol/L	Hospitalizados
Shahar A.	2001	640	>65	15	Israel	Vit. B12 < 150 pmol/L	Hospitalizados
Salles-Montaudon N.	2003	196	EM 85	13,3	Suiza	¿?	Hospitalizados
Marengoni A.	2004	214	> 65	24	Italia	Vit. B12 < 200 pg/mL	Hospitalizados
Paillaud E.	2004	94	EM 82	7	Francia	Vit. B12 < 200 ng/L	Hospitalizados
Iqbal MP.	2005	224 (P) 126(C)	30-70	63,4 3,2	Pakistán	Vit. B12 < 200 pg/mL	Hospitalizados 224 con IAM
Dzieniszewski J.	2005	206	16-87	6,8	Polonia	Vit. B12 < 150 pg/mL	Hospitalizados
Rodríguez S.	2005	70	EM 83	14,2	España	¿?	Hospitalizados Sdr anémico
Viña JJ.	2006	337	>65	9	España	Vit. B12 < 200 pg/mL	Hospitalizados
van Oijen MG.	2007	229	EM 62	33	Holanda	Vit. B12 < 203 ng/L	Hospitalizados U. Coronaria
van Oijen MG.	2007	376	EM 65	7	Holanda	Vit. B12 < 150 pmol/L	Cardiópatas
Wang YH.	2009	827	>60	19,7	China	¿?	Hospitalizados Pctes NRL
Corcoran TB.	2009	129	EM 40	6,2	Australia	Vit. B12 < 160 pmol/L	UMI
Mateos-Polo L.	2009	214	25-102	8,4	España	¿?	Hospitalizados Sdr anémico
Pérez-Bocanegra C.	2009	95	60-99	6,3	España	¿?	Hospitalizados Sdr anémico
Tal S.	2010	1570	>65	15	Israel	Vit. B12 < 200 pmol/L	Hospitalizados
Arora S.	2011	422	16-74	43	India	Vit. B12 < 200 pg/mL	Hospitalizados
Vega de Céniga M.	2011	420 (CI) 204 (ECE)	EM 66 EM 72	6,7 15,7	España	Vit. B12 < 197 pg/mL	Ambulatorios y hospitalizados
Alonso B.	2012	350	60-94	13	España	Vit. B12 < 200 pg/mL	Hospitalizados

Equivalencia límite inferior de Vitamina B12: 145 pmol/L = 200 pg/mL. **Abreviaturas:** **Pctes NRL:** pacientes con patologías neurológicas. **IAM:** Infarto agudo de miocardio. **CI:** Claudicación intermitente. **ECE:** Estenosis crítica de extremidades

Tabla 38. Estudios de prevalencia de déficit de Vitamina B12 realizados ambulatoriamente en individuos sanos en España (1990-2012). n=5

Autor	Año	N	Edad	Def. B12 (%)	Provincia	Criterios diagnósticos	Ambitos
Haller J.	1991	398	75-80	0	La Coruña	Vit. B12 < 111 pmol/L	Ambulatorios EURONUT
Aranceta J.	1994	¿?	25-60	12	P. Vasco	Vit. B12 < 200 pg/mL	Ambulatorios
Henríquez SP.	2000	606	18-64 65-76	3,7 8,5	Canarias	Vit. B12 < 200 pg/mL	Ambulatorios ENCA
García Closas R.	2002	378	18-75	1,9	Cataluña	Vit. B12 < 199 pg/mL	Ambulatorios
Planells E.	2003	384	25-60	11	Granada	¿?	Ambulatorios

Abreviatura: **EURONUT-Seneca:** Survey in Europe on nutrition and the elderly, a concerted action. **H:** Hombres. **M:** Mujeres. **ENCA:** Encuesta nutricional de Canarias.

Tabla 39. Estudios de prevalencia de déficit de Vitamina B12 realizados ambulatoriamente en individuos sanos en el mundo (1990-2012). n=57

Autor	Año	N	Edad	Def. B12 (%)	País	Criterios diagnósticos	Ambitos
Haller J.	1991	2500	75-80	1,6-10	España y otros	Vit. B12 < 150 pg/mL	Ambulatorios EURONUT
Nilsson-Ehle H.	1991	973	70 81	4,6 7,2	Suecia	Vit. B12 < 130 pmol/L	Ambulatorios E. longitudinal
Lindenbaum J.	1994	548 (P) 117 (C)	65-99 22-63	5,3 1,7	USA	Vit. B12 < 200 pg/mL	Ambulatorios
Cristal HA.	1994	410	75-85	5,3	USA	Vit. B12 < 150 pg/mL	Ambulatorios
Black AK.	1994	92	> 20	25	México	Vit. B12 < 103 pmol/L	Medio rural
Tungtrongchitr R.	1995	87 (H) 19 (M)	¿?	2,3 -	Tailandia	¿?	Ambulatorios Albañiles
Quinn K.	1996	58	>65	3 (H) 2 (M)	Canadá	Vit. B12 < 220 pg/mL	Ambulatorios
Rissanen PM.	1996	90	73-94	4,4	Finlandia	Vit. B12 < 111 pmol/L	Ambulatorios
De Carvalho MJ.	1996	157 (H) 180 (M)	18-62	5	Francia	Vit. B12 < 110 pmol/L	Ambulatorios ESVITAF
Brussaard JH.	1997	444	20-79	3,6	Holanda	Vit. B12 < 100 pmol/L	Donantes
Wright JD.	1998	8085	20-99	3	USA	Vit. B12 < 200 pg/mL	NHANES III
Bernard MA.	1998	303	65-89	6	USA	Vit. B12 < 200 pg/mL	Veteranos
Fenech M.	1998	49 (H) 57 (M)	18-32	- 4,4	Australia	Vit. B12 < 150 pmol/L	Ambulatorios
Andrade JJ.	1999	204	60-75	8,8	Indonesia	Vit. B12 < 148 pmol/L	Ambulatorios
Ray JG.	2000	637	EM 58	3,3	Canadá	Vit. B12 < 120 pmol/L	Ambulatorios
Gielchinsky Y.	2001	270	>18	>60	Israel	Vit. B12 < 200 ng/L	Donantes
Refsum H.	2001	204	27-55	47	India	Vit. B12 < 150 pmol/L	Ambulatorios

Arnaud J.	2001	106 (H)	27-59	20-50	Cuba	Vit.B12 < 100 pmol/L	Ambulatorios
Kwan L.	2002	603	60-93	17 10	USA	Vit. B12 < 148 pmol/L	Hispanos
Kwok T.	2002	119(M)	>55	75	China	Vit. B12 < 150 pmol/L	Vegetarianas
Lim HS.	2002	195	23-72	2 (H) 1 (M)	Corea	Vit. B12 < 150 pg/mL	Ambulatorios
Wahlin A.	2002	961	35-80	4,2	Suecia	Vit. B12 < 151 pmol/L	Ambulatorios
Bjelland I.	2003	5948	>40	10	Noruega	Vit. B12 < 230 pmol/L	Ambulatorios
Kim MK.	2003	230	19-65	3,6 6,7	USA	Vit. B12 < 200 pg/mL	Costarricenses
Waldmann A.	2004	131	20-82	28,2	Alemania	Vit. B12<110 pmol/L	Veganos
Soberon M.	2004	99	18-30	22,2	Perú	Vit. B12 < 223 pg/mL	Universitarios
Flicker LA.	2004	?	?	14 (H) 6(M)	Australia	Vit. B12 < 200 pg/mL	Ambulatorios
Meertens L.	2005	53	> 60	26,4	Venezuela	Vit.B12 < 150 pmol/L	Ambulatorios
Suárez T.	2005	66	14-15 16-19	15,3 22,2	Venezuela	Vit. B12 < 200 pg/mL	Ambulatorios
Fora MA.	2005	216	19-50	48,1	Jordania	Vit. B12 < 222 pg/mL	Ambulatorios
Yajnik CS.	2006	441	EM 39	67	India	Vit. B12 < 150 pmol/L	Rurales/urbanos
Miller JW.	2006	1545	>60	6,5	USA	Vit. B12 < 148 pmol/L	Estudio SALSA
Castañón M.	2006	112	30-71	11	Argentina	Vit. B12 < 200 pg/mL	Ambulatorios
Ramírez-Pereda A.	2006	100	>60	30	México	Vit. B12 < 150 pmol/L	Ambulatorios
Fakhrzadeh H.	2006	1214	25-64	26(H) 27(M)	Irán	Vit. B12 < 185 pmol/L	Ambulatorios
Flood VM.	2006	2901	>50	22,9	Australia	Vit. B12 < 185 pmol/l	Ambulatorios
H-Schumacher I.	2007	400	20-40	11,2	C. Rica	Vit. B12 < 150 pmol/L	Ambulatorios
Gulvady C.	2007	75	45-68	65	India	Vit. B12 < 193 pg/mL	Ejecutivos
Hao L.	2007	2407	35-64	11 39	China	Vit. B12 < 185 pmol/L	Ambulatorios
Abdollahi Z.	2008	580(M)	15-49	22,7	Irán	¿?	Ambulatorios
Morris MS.	2008	1457	EM 71	23,7	USA	Vit. B12 < 148 pmol/L ó AMM > 210 nmol/L	Ambulatorios NHANES II
Madan AH.	2008	4180	>18	5	Australia	Vit. B12 < 132 pmol/L	Ambulatorios
Shams M.	2009	984	20-80	25,8	Irán	Vit. B12 < 160 pg/mL	Ambulatorios
Vogiatzoglou A.	2009	6946	47-49 71-74	3,5 8,4	R. Unido	Vit. B12 < 200 pmol/L + AMM > 0,27 mmol/L	Ambulatorios
Gilsing AM.	2010	226(O) 231(V) 232Vx	45-74	0,4 7 52	R. Unido	Vit. B12 < 118 pmol/L	Ambulatorios
Sánchez H.	2010	1028	65-87	12	Chile	Vit. B12 < 148 pmol/L	Ambulatorios
Xavier JM.	2010	500	30-59 >60	6,4 7,2	Brasil	Vit. B12 < 200 pg/mL	Ambulatorios
Thuesen BH.	2010	6784	30-60	4,7	Dinamarca	Vit. B12 < 148 pg/mL	Ambulatorios
Walker PF.	2011	99 (B) 60 (B)	15- >50	64 32	USA	Vit. B12 < 203 pg/mL	Refugiados
Lee-Guzman C.	2011	4269	21- >80	8,78	USA	Vit. B12 < 200 pg/mL	Ambulatorios
McFarlane AJ	2011	3320	20-79	5	Canadá	Vit. B12 < 148 pmol/L	Ambulatorios
Hinds HE.	2011	1770	>60	3,6 (H) 2,7 (M)	USA	Vit. B12 < 200 pg/mL	NHANES III
Sukla KK.	2012	1426	EM35	49	India	Vit. B12 < 220 pg/mL	Ambulatorios
Laillou A.	2012	505	15-50	12	Vietnam	Vit. B12 < 148 pmol/L	Ambulatorios
Lanerolle-Dias M.	2012	613 (M)	15-19	1,6	Sri Lanka	Vit. B12 < 150 pg/mL	Ambulatorios
Yakub M.	2012	872	18-60	9,7	Pakistán	Vit. B12 < 200 pg/mL	Ambulatorios
Lee YM.	2012	4089	>20	2,2	USA	Vit. B12 < 200 pg/mL	NHANES III

Equivalencia límite inferior de Vitamina B12: 145 pmol/L=200 pg/mL. **Abreviaturas:** **EURONUT-Seneca:** Survey in Europe on nutrition and the elderly, a concerted action. **E:** Estudio. **SALSA:** Sacramento Area Latino Study on Aging. **M:** Mujeres. **H:** Hombres. **ESVITAF:** Survey on the vitamin status of the French. **NHANES II y III:** National Health and Nutrition Examination Survey, 2ª y 3ª edición. **EF:** Edad fértil. **EM:** Edad media. **B:** Refugiados buthaneses. **O:** Omnívoros. **V:** Vegetarianos. **Vx:** Veganos estrictos.

Tabla 40. Estudios de prevalencia de déficit de Vitamina B12 realizados en pacientes institucionalizados o en Centros de Salud en España (1990-2012). n=7

Autor	Año	N	Edad	Def. B12 (%)	Provincia	Criterios diagnósticos	Ambitos
González-Clemente JM.	2002	141	EM 75	9,9	Cataluña	Vit. B12 < 200 pg/mL	Ambulatorios
Huerta JM.	2004	140	60-80	15,7	Oviedo	Vit. B12 < 185 pg/mL	Institucionalizados
García Pinilla JM.	2005	198	38-79	3,2	Málaga	Vit. B12 < 211 pg/mL	Ambulatorios Pctes con SCA
Aparicio Vizuete A.	2005	183	>65	1,9	Madrid	Vit. B12 < 110 pg/mL	Institucionalizados
Glez-Gross M.	2007	218	60-105	15,8	Granada	Vit. B12 < 200 pg/mL	Institucionalizados
Vázquez-Padrezuela M.	2012	99	> 65	16,5	Valladolid	Vit. B12 < 187 pg/mL	Institucionalizados
Albers U.	2012	167	EM 81	10,7	Madrid	Vit. B12 < 150 pg/mL	Institucionalizados

Abreviaturas: **EM:** Edad media. **Pctes:** Pacientes. **SCA:** Síndrome coronario agudo.

Tabla 41. Estudios de prevalencia de déficit de Vitamina B12 realizados en pacientes ambulatorios en el mundo (1990-2012). n=73

Autor	Año	N	Edad	Def. B12 (%)	País	Criterios diagnósticos	Ambitos
Hanger HC.	1991	204	>65	7,3	N. Zelanda	Vit. B12 < 114 pmol/L	Ambulatorios
Brolin RE.	1991	140	¿?	37	USA	Vit. B12 < 210 pg/mL	Postoperados (BGYRL)
Yao Y.	1992	100	65-93	16	USA	Vit. B12 < 200 pg/mL	Ambulatorios
Pennypacker L.C.	1992	152	65-99	14,5	USA	Vit. B12 < 300 pg/mL AMM + Hcy > 3 DE	Ambulatorios
Lindenbaum J.	1994	548 117	65-99 22-63	5,3 1,7	USA	Vit.B12 < 200 pg/mL	Ambulatorios
Koehler KM.	1996	100	68-96	18	USA	Vit. B12 < 221 pmol/L + AMM > 271 nmol/L + Hcy > 16,2 mmol/L	Ambulatorios
Allain TJ.	1997	278	>65	13	Zimbabwe	¿?	Ambulatorios
Bernard MA.	1998	303	65-89	16	USA	Vit. B12 < 200 pg/mL Vit. B12 < 300 pg/mL + AMM u Hcy >2 DE	Ambulatorios Veteranos
Brolin RE.	1998	348	¿?	35	USA	Vit. B2 < 210 pg/mL	Postoperados (BGYRL)
van Asselt DZ.	1998	105	74-80	23,8	Alemania	Vit. B12 < 260 pmol/L + AMM > 0,32 mm/L	Ambulatorios
Carmel R.	1999	725	>60	11,8	USA	Vit. B12 < 140 pmol/L	Ambulatorios
Tucker KL.	2000	2999	26-49 50-64	16,3 16,4	USA	Vit. B12 < 185 pmol/L	Ambulatorios

Mischoulon D.	2000	213	65-83	17,1	USA	Vit. B12 < 200 pg/mL	Depresión
Penninx BW.	2000	700 (M)	>65	15-27	USA	Vit. B12 < 258 pmol/L + AMM > 271 nmol/L	Discapacitadas
Olivares M.	2000	274	≥60	51(H) 31M	Chile	Vit. B12 < 148 pmol/L	Ambulatorios
Bjorkegren K.	2001	235	>70	15,6	Suecia	Vit. B12 < 115 pmol/L	Ambulatorios
Lündstrom IMC.	2001	40	24-79	13	Suecia	Vit. B12 < 130 pmol/L	Sdr. de Sjögren
Dahele A.	2001	39	EM 48	41	Escocia	Vit. B12 < 220 ng/L	Celiacos
Holst I.	2002	400	20-40	18	C. Rica	Vit. B12 < 223 pg/mL	Ambulatorios
Rajan S.	2002	350	65-100	13	USA	Vit. B12 < 300 pg/mL + AMM > 271 nmol/L	Ambulatorios
McNeill G.	2002	208(H) 197(M)	>75	10,1 12,6	R. Unido	Vit. B12 < 147 pmol/L	Ambulatorios
Sipponen P.	2003	635 (P) 402(C)	51-65	28 7	Finlandia	Vit. B12 < 170 pmol/L	Ambulatorios
van Wijngaarden PJ.	2003	51 (H) 143(M)	>70	43 21	Holanda	Vit. B12 < 210 pmol/L	Ambulatorios
Clarke R.	2003	1562	65-74 >75	6 12	R. Unido	Vit. B12 < 150 pmol/L	Ambulatorios
Wolters M.	2003	178(M) 418 (I)	60-70	42,9 1,2	Alemania	Vit. B12 < 258 pmol/L	Ambulatorios
Figlin E.	2003	749(D) 104 (C)	>69	12,6 1,9	Israel	Vit. B12 < 148 pmol/L y AMM > 0,27μmol/L	Ambulatorios
Gümürdülü Y.	2003	310	EM 43	46,8	Turquía	Vit. B12 < 200 pg/mL	Ambulatorios
De Jong N.	2003	103	70-80	13	N. Zelanda	Vit. B12 < 150 pmol/L	Ambulatorios
Saperstein DS.	2003	324	EM 66	8,3	USA	Vit. B12 < 300 pg/mL ó > 300 pg/mL + ↑ AMM	Ambulatorios Pctes con PN
Petchkrua W.	2003	106	EM 54	5,7	USA	Vit. B12 < 220 pg/mL	Pctes con LM
Obeid R.	2004	228	>65	22-32	Alemania	Vit. B12 < 196 pmol/L	Institucionalizados
Clarke R.	2004	3511	>65	12-26	R. Unido	Vit. B12 < 150 pmol/L	Ambulatorios
Mete N.	2004	37	18-63	33,3	Turquía	Vit. B12 < 180 pg/mL	Pctes con UCI
Segal R.	2004	276	19-92	23,6	Israel	Vit. B12 < 200 ng/L	Pctes AR/LES
Gamble MV.	2005	1650	20-65	8 H 13M	USA	Vit B12 < 151 pmol/L	Ambulatorios
Robertson G.	2005	421	37-90	17	Canadá	Vit. B12 < 258 pmol/L	Ambulatorios
Chen KJ.	2005	656(H) 694 M	65-90	17 8,6	Taiwán	Vit. B12 < 258 pmol/L	Ambulatorios
Green TJ.	2005	466	>65	12	N. Zelanda	Vit. B12 < 148 pmol/L	Ambulatorios
Ramírez Pereda A.	2006	100	>60	30	México	Vit. B12 < 150 pmol/L	Ambulatorios
Hin H.	2006	1000	>75	13	R. Unido	Vit. B12 < 133 pmol/L	Ambulatorios
Ness-Abramof R.	2006	115	14-78	28	Israel	Vit. B12 < 133 pmol/L	Pctes con ETAI
Flood VM.	2006	2901	>50	22,9	Australia	Vit. B12 < 185 pmol/L	Ambulatorios
Meertens L.	2007	55	>60	17,5	Venezuela	Vit. B12 < 150 pmol/L	Ambulatorios
Clarke R.	2007	2741	>65	21	R. Unido	Vit. B12 ≤ 199 pmol/L + HoloTC < 45 pmol/L	Ambulatorios
Coull DB.	2007	171	EM 40	25	R. Unido	Vit. B12 < 188 pg/mL	Pctes con RTI
Loikas S.	2007	1048	65-100	8,4	Finlandia	Vit. B12 < 150 pmol/L	Ambulatorios
Weikert C.	2007	967	35-65	12,1	Alemania	Vit. B12 < 232 pmol/L	Ambulatorios
Zittan E.	2007	360	EM 44	13	Israel	Vit. B12 < 150 pmol/L	Ambulatorios
Maktouf C.	2007	478(A) 34 (N)	EM 45	98 23	Túnez	Vit. B12 < 118 pmol/L	Ambulatorios

		82 (Pp) 10 (TI)		14 10			
Headstrom PD.	2008	183	<20 >60	19,1	USA	Vit. B12 < 224 pg/mL	Pctes con EII
Vargas-Ruiz AG.	2008	30	21-56	33,3	México	Vit. B12 < 150 pg/mL	Postoperados (BPYRL)
Jabbar A.	2008	116	19-91	39,6	Pakistán	Vit. B12 < 200 pg/mL	Hipotiroidismo
Den Elzen WPJ.	2008	423	>85	16,1	Holanda	Vit. B12 < 150 pmol/L	Consumidores IBP
Lippi G.	2008	946	21-87	6,3	Italia	Vit. B12 < 125 pmol/L	Ambulatorios Disf. tiroidea
Sarari AS.	2008	43	18-82	67,4	Palestina	Vit. B12 < 200 pg/mL	Pctes con H.P+
Barghouti FF.	2009	838	18-78	44,6	Jordania	Vit. B12 < 180 pg/mL	Ambulatorios
Pront R.	2009	223(M) 172(H)	19-57	23,3 35,5	Israel	Vit. B12 < 200 pg/mL	Ambulatorios Infertilidad
Ng TP.	2009	176 (P) 491 (C)	>55	7,9 3,5	Singapur	Vit. B12 < 180 pmol/L	Institucionalizados Depresión
M-Marín JD.	2010	75	27-80	28	Colombia	Vit. B12 < 200 pg/mL	Gastritis atrófica
Johnson MA.	2010	80 231	80-89 >98	22,8 35,3	USA	Vit. B12 < 258 pmol/L + AMM > 271 nmol/L	Ambulatorios
Dan GA.	2010	112	EM 74	30	Rumania	¿?	Pctes con I.C avanzada y AF
Fragasso A.	2010	101	23-92	86	Italia	Vit. B12 < 200 pg/mL	A. Perniciosa
Valente E.	2011	700	63-97	8	Irlanda	Vit. B12 < 123 pmol/L	Ambulatorios
O`Leary F.	2011	52	EM 80	42	Australia	Vit. B12 < 148 pmol/L	Pctes con RHB
Gammon CS.	2012	90(V) 34(NV)	>20	24 9	N. Zelanda	Vit. B12 < 150 pmol/L	Ambulatorios
Mirkazemi C.	2012	130	EM 88	14	Australia	Vit. B12 < 150 pmol/L	Institucionalizados
Aarts EO.	2012	377	EM 43	40	Holanda	Vit. B12 < 150 pmol/L	Postoperados (BGYRL)
Koenig V.	2012	7424	¿?	8	PL	¿?	Ambulatorios
Fabian E.	2012	102	70-90	5	Austria	Vit. B12 < 110 pmol/L	Ambulatorios
Fragasso S.	2012	22	EM 60	9	Italia	Vit. B12 < 275 pg/mL	Alcohólicos
Carvalho IR.	2012	70	EM 39	15,4	Brasil	Vit. B12 < 250 mg/dL	Postoperados (BGYRL)
Rasool S.	2012	130	EM 40	23,1	Pakistán	Vit. B12 < 200 pg/mL	Pctes con dispepsia
Memişoğullari R.	2012	565	18-92	29,3	Turquía	Vit. B12 < 200 pg/mL	Pctes con anemia

Equivalencia límite inferior de Vitamina B12: 145 pmol/L=200 pg/mL. **Abreviaturas:** **BGYRL:** Bypass gástrico en Y de Roux vía laparoscópica. **M:** mujeres. **H:** Hombres. **EM:** Edad media. **I:** Institucionalizados. **D:** Centro de Día. **C:** Controles. **Pctes:** Pacientes. **PN:** Polineuropatía. **LM:** Lesionados medulares. **UCI:** Urticaria crónica idiopática. **P:** pacientes. **ETA:** Enfermedad tiroidea autoinmune. **HoloTC:** Holotranscobalamina. **RTI:** Reconstrucción del tránsito intestinal. **A:** Anemia perniciosa. **N:** Pacientes con síntomas neurológicos. **Pp:** Pacientes con síntomas psiquiátricos. **TI:** Pacientes con tiroiditis de Hashimoto. **IBP:** Inhibidores de la bomba de protones. **HP+:** infección por H. Pylori. **EII:** enfermedad inflamatoria intestinal. **AMM:** Acido metilmalónico. **AR:** Artritis reumatoide. **LES:** Lupus eritematosos sistémico. **IC:** Insuficiencia cardiaca. **AFe:** Anemia ferropénica. **VIH:** Virus de la inmunodeficiencia adquirida. **RHB:** Pacientes en tratamiento rehabilitador. **V:** Vegetarianos. **NV:** No vegetarianos. **PL:** Principado de Liechtenstein.

Tabla 42. Estudios de prevalencia de déficit de Vitamina B12 en pacientes diabéticos (1990-2012). n=14

Autor	Año	N	Edad	Def. B12 (%)	País	Criterios diagnósticos	Ambitos
Wulffelé MG.	2003	171(m) 182(p)	63,2	4,6	Holanda	Vit. B12 < 180 pg/mL	Ambulatorios E. HOME
Jabbar A.	2008	19	19-91	31,6	Pakistán	Vit. B12 < 200 pg/mL	Pctes con hipotiroidismo
Pflipsen MC.	2009	203	EM 44	22	USA	Vit. B12 < 100 pg/mL Vit. B12 100 -350 pg/mL +AMM > 243 mmol/L u Hcy > 11,9 µmol/mL	Ambulatorios diabéticos
de Jager J.	2010	196 (m) 194 (p)	30-80	1,6 / 9,9 2,2 / 2,7	Holanda	Vit. B12 < 150 pmol/L	Ambulatorios E. HOME
Marar O.	2011	216(m) 70(nm)	EM 65	33 7,5	Irlanda	Vit. B12 < 140 ng/L	Ambulatorios diabéticos
Nervo M.	2011	144	EM 64	6,9	Brasil	Vit. B12 < 125 pmol/L	Ambulatorios diabéticos
Satyanarayan A.	2011	194(P ₁) 100(P ₂) 100(C)	EM 55	67 54 41	India	Vit. B12 < 200 pg/mL	Ambulatorios diabéticos
Liu KW.	2011	56 (m) 78(nm)	61-93	29 5	Hong Kong	Vit. B12 < 150 pmol/L	Ambulatorios diabéticos
Mariño Suárez JE.	2012	82	EM 68	17	España	Vit. B12 < 200 pg/mL	Ambulatorios diabéticos
Calvo Romero JM.	2012	81	EM 72	8,6	España	Vit. B12 < 197 pg/mL	Ambulatorios diabéticos
Ouvarovskaia V.	2012	333	EM 71	26,7	España	Vit. B12 < 180 pg/mL	Ambulatorios diabéticos
Koshy AS.	2012	90	EM 18	54	India	Vit. B12 < 148 pmol/L	Ambulatorios DM-1
Long AN.	2012	614 215 (C) 575(m)	>60	22-25 22,2	USA	Vit. B12 < 300 pg/mL	Ambulatorios diabéticos
Reinstatler L.	2012	1046 (nm) 6867 (C)	>50	5,8 2,2 3,3	USA	Vit. B12 < 148 pmol/L	Diabéticos NHANES
Alonso B.	2012	145	66-99	14,5	España	Vit. B12 < 200 pg/mL	Hospitalizados

Equivalencia límite inferior de Vitamina B12: 145 pmol/L=200 pg/mL. **Abreviaturas:** **m:** Pacientes diabéticos tipo II en tratamiento con metformina. **p:** placebo. **E. HOME:** Hyperinsulinaemia the Outcome of its Metabolic Effects Study. **ERC:** Enfermedad renal crónica. **Pctes:** Pacientes. **C:** Controles. **nm:** Pacientes diabéticos tipo II sin Metformina.. **EM:** Edad media. **AMM:** Acido metilmalónico. **Hcy:** Homocisteína. **P1:** Pacientes con retinopatía diabética. **P2:** Pacientes sin retinopatía diabética.

Tabla 43. Estudios de prevalencia del déficit de Vitamina B12 según el sexo (1990-2012). n=25

Autor	Año	N	Edad	País	% ♂	% ♀	p	Niv. Vit. B12
Tungtrongchitr R.	1995	106	¿?	Tailandia	2,3	-	-	¿?
De Carvalho MJ.	1996	337	18-62	Francia	5	5	-	Vit. B12 < 110 pmol/L
Quinn K.	1996	58	>65	Canadá	3	7	N.S	Vit. B12 < 220 pg/mL
Olivares M.	2000	274	>60	Chile	6,5 51,1	2,8 30,9	< 0,003	Vit. B12 < 74 pmol/L Vit. B12 < 148 pmol/L
McNeill G.	2002	405	<75	R. Unido	10,1	12,6	-	Vit. B12 < 147 pmol/L
Lim HS.	2002	192	23-72	Corea	2	1	-	Vit. B12 < 150 pg/mL
Figlin E.	2003	749	>69	Israel	15,2	11,5	N.S	Vit. B12 < 147 pmol/L
van Wijngaarden PJ.	2003	194	>70	Holanda	43	21	-	Vit. B12 < 210 pg/mL
Flicker LA.	2004			Australia	14	6	-	Vit. B12 < 200 pg/mL
Fora MA.	2005	216	19-50	Jordania	29,6	18,5	N.S	Vit. B12 < 222 pg/mL
Gamble MV.	2005	1650	28-49	Bangladesh	8	13	< 0.0001	Vit. B12 < 151 nmol/L
Chen KJ.	2005	656 694	65-90	Taiwán	17	8,6	-	Vit. B12 < 258 pmol/L
Fakhrzadeh H.	2006	1214	25-64	Irán	26,3	27,2	N.S	Vit. B12 < 185 pmol/L
Loikas S.	2007	1048	65-100	Finlandia	8	4,7	0,027	Vit. B12 < 150 pmol/L
Hao L.	2007	2407	35-64	China	31	20	<0,0001	Vit. B12 < 185 pmol/L
Gil Prieto R.	2008	313	13-15	España	6	4	-	Vit. B12 < 224 pmol/L
Madan AH.	2008	4180	?	Australia	4	1	-	Vit. B12 < 132 pmol/L
Barghouti FF.	2009	838	18-78	Jordania	52,1	41	< 0,001	Vit. B12 < 200 pmol/L
Thuesen BH.	2010	6784	30-60	Dinamarca	4,5	8,4	< 0,005	Vit. B12 < 148 pmol/L
Sánchez H.	2010	1028	65-87	Chile	18,2	9	< 0,001	Vit. B12 < 148 pmol/L
Jonhson MA.	2010	80 231	80-89 >98	USA	25,9 34,4	21,2 34,4	N.S	Vit. B12 < 258 pmol/l + AMM > 271 nmol/L
Hinds HE.	2011	1770	>60	USA	3,6	2,7	-	Vit. B12 < 200 pg/mL
Lee-Guzman C.	2011	4269	21->80	USA	10,87	5,77	-	Vit. B12 < 200 pg/mL
Arora S.	2011	422	16-74	India	36	41,2	N.S	Vit. B12 < 200 pg/mL
Vázquez-Pedrazuela MC.	2012	99	>65	España	4	12,5	N.S	Vit. B12 < 187 pg/mL
Alonso B.	2012	350	60-99	España	10,6	15	N.S	Vit. B12 < 200 pg/mL

Equivalencia límite inferior de Vitamina B12: 145 pmol/L=200 pg/mL. Abreviaturas: N.S: No significación estadística. AMM: Acido metilmalónico.

PARTE SEGUNDA

ESTUDIO DE LA MUTACION C677T DEL GEN DE LA ENZIMA 5,10-MTHFR EN PACIENTES CON DÉFICIT DE VITAMINA B12. CASOS-CONTROL.

De los 119 **pacientes** con déficit de Vitamina B12, 68 eran *mujeres* (57%) y 51 eran *varones* (43%). La edad media fue de 77,4 años (DE: 7,5, rango: 60 a 94 años), 77,9 (DE: 7,6) en las mujeres y 76,7 (DE: 7,4) en los varones ($p=0,39$).

En los 117 **controles** la distribución por sexo fue similar, con 66 mujeres (56,4%) y 51 varones (43,6%). La edad media fue de 54,1 años (DE: 8,8).

En la **tabla 44** se puede observar la distribución de los pacientes por *edad y sexo*. En ambos sexos, predominaron los pacientes con edad comprendida entre los 70 y 79 años con 34 mujeres (28,6% del total de la muestra) y 23 varones (19,3% del total de la muestra).

Tabla 44. Distribución de la muestra por grupos de edad y sexo (n=119).

			Rangos de edad (años)				Total
			60-69	70-79	80-89	≥ 90	
Sexo	H	Totales	9	23	17	2	51
		% Hombres	17,6%	45,1%	33,3%	3,9%	100,0%
		% Rangos de edad	50%	40,4%	45,9 %	28,6%	42,9%
	M	Totales	9	34	20	5	68
		% Mujeres	13,2%	50%	29,4%	7,4%	100,0%
		% Rangos de edad	50%	59,6%	54,1%	71,4%	57,1%
Total		Totales	18	57	37	7	119
		% Total	15,1%	47,9%	31,1%	5,9%	100,0%
		% Rangos de edad	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

1.- Relación entre los valores de Vitamina B12 y características demográficas

Los valores de Vitamina B12 en plasma en los 119 **pacientes con déficit** vitamínico oscilaron entre un **valor mínimo** de 32,1 y un **máximo** 199,9 pg/mL, con un valor medio de 151,3 pg/mL (DE: 42,2).

En los 117 **controles** oscilaron entre un mínimo de 210,0 pg/mL y un máximo de 990,0 (pg/mL) con un valor medio de 486,9 pg/mL (DE: 198,0).

Al analizar la relación entre los valores de Vitamina B12 en plasma y la **edad** en los pacientes con déficit no se observó asociación entre ambos, ni de forma global ($p=0,9$), ni al considerarla por rangos de edad (**Tabla 45**). En los controles, aunque ninguno tenía déficit de Vitamina B12, si se observó una correlación inversa entre los niveles de Vitamina B12 y la edad, es decir a mayor edad menores niveles de Vitamina B12 ($p=0,04$).

Tablas 45. Distribución de los niveles de Vitamina B12 en plasma según la edad. (n=119).

Rangos de edad	Mujeres	Hombres	Total	%	Vit. B12 Media (pg/mL)	p
60-70 años	9	9	18	15,1	147,39 ± 50,40	0,93
71-80 años	34	23	57	47,9	150,01 ± 40,49	
81-90 años	20	17	37	31,1	154,46 ± 44,30	
>90 años	5	2	7	5,8	154,85 ± 23,70	

Al analizar la relación entre los valores séricos de la Vitamina B12 y el **sexo**, dentro del grupo de pacientes con déficit de Cobalamina, si se observó que los varones presentaron un valor medio de Vitamina B12 significativamente superior (160,9 pg/mL) al de las mujeres (144,1 pg/mL) ($p=0,024$). Esta asociación se mantenía ajustando por la edad ($p=0,03$). Sin embargo, en los controles, no se observaron diferencias significativas en los valores de Vitamina B12 en función del género ($p=0,23$) (**Tabla 46**).

Tablas 46. Distribución de los niveles de Vitamina B12 en plasma según el sexo en el grupo de pacientes y en el grupo control.

	Mujeres 68 (57%)	Hombres 51 (43%)	Total 119 (100%)	p
Vitamina B12 (pg/mL) Media ± DE (CASOS)	144,07 ± 46,1	160,9 ± 34,5	151,3 ± 42,2	0,024
	Mujeres 66 (56%)	Hombres 51 (44%)	Total 117 (100%)	p
Vitamina B12 (pg/mL) Media ± DE (CONTROLES)	506,4 ± 210,8	460,8 ± 178,3	486,9 ± 198	0,23

Los pacientes con déficit de B12 se clasificaron en función de los niveles de Cobalamina (Cbl) en suero, distinguiéndose **3 grupos**:

1) Déficit leve: 150-200 pg/mL, 2) Déficit moderado: 100-149,9 pg/mL y 3) Déficit grave: $\leq 99,9$ pg/mL.

El número de pacientes incluido en cada grupo está representado en la siguiente tabla (**Tabla 47**). La mayor parte, en concreto 72 (60,5%), presentaron un déficit ligero de Vitamina B12.

Tabla 47. Distribución de los pacientes con déficit plasmático de Vitamina B12 (n=119).

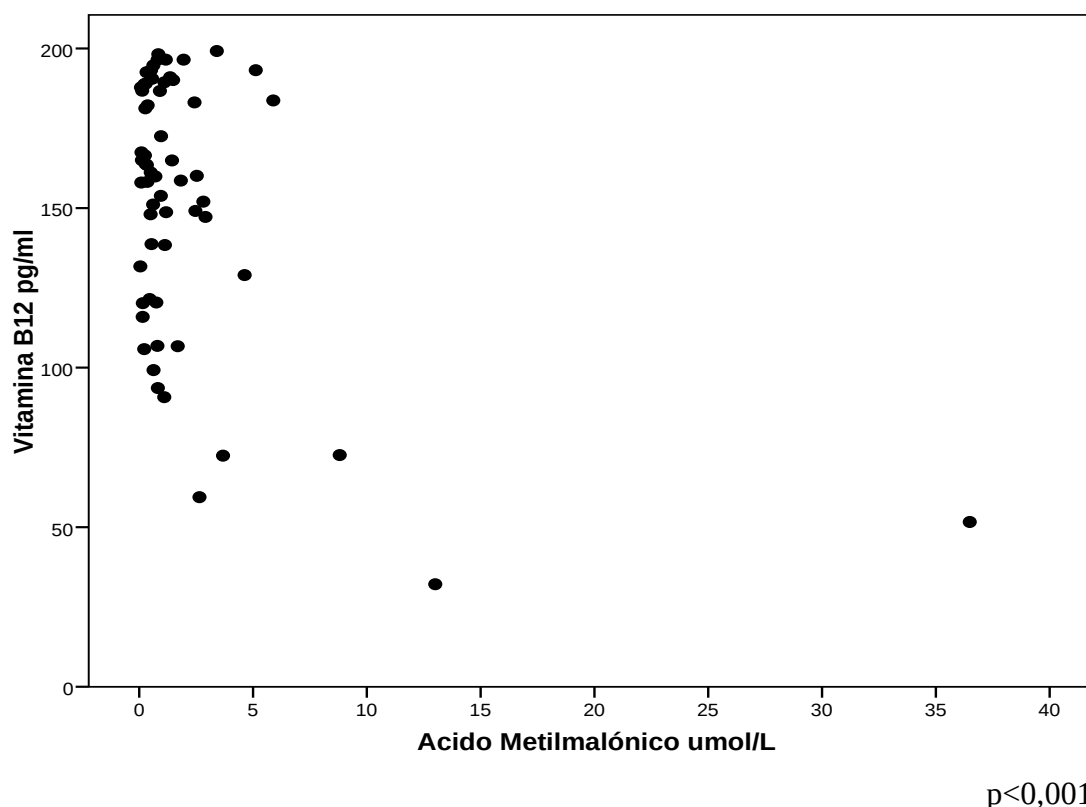
Déficit de Vitamina B12	Niveles plasmáticos	n	%
Leve	150-199,9 pg/mL	72	60,5
Moderado	100-149,9 pg/mL	32	27
Severo	$\leq 99,9$ pg/mL	15	12,5

2.- Otros biomarcadores relacionados con el déficit de la Vitamina B12

2.1 Ácido metilmalónico (AMM)

Se observó una elevación de los niveles de ácido metilmalónico en plasma ($>0,56$ mmol/L) en 41 pacientes (55,4%) de los 75 en los que se pudo determinar su valor. No se observaron diferencias significativas de su incremento en función de la edad ($p=0,35$) o el sexo ($p=0,24$). Se observó asociación inversa significativa entre los valores de Vitamina B12 y ácido metilmalónico ($p < 0,001$) (**Gráfica 4**).

Gráfica 4. Relación entre los niveles de ácido metilmalónico y Vitamina B12.

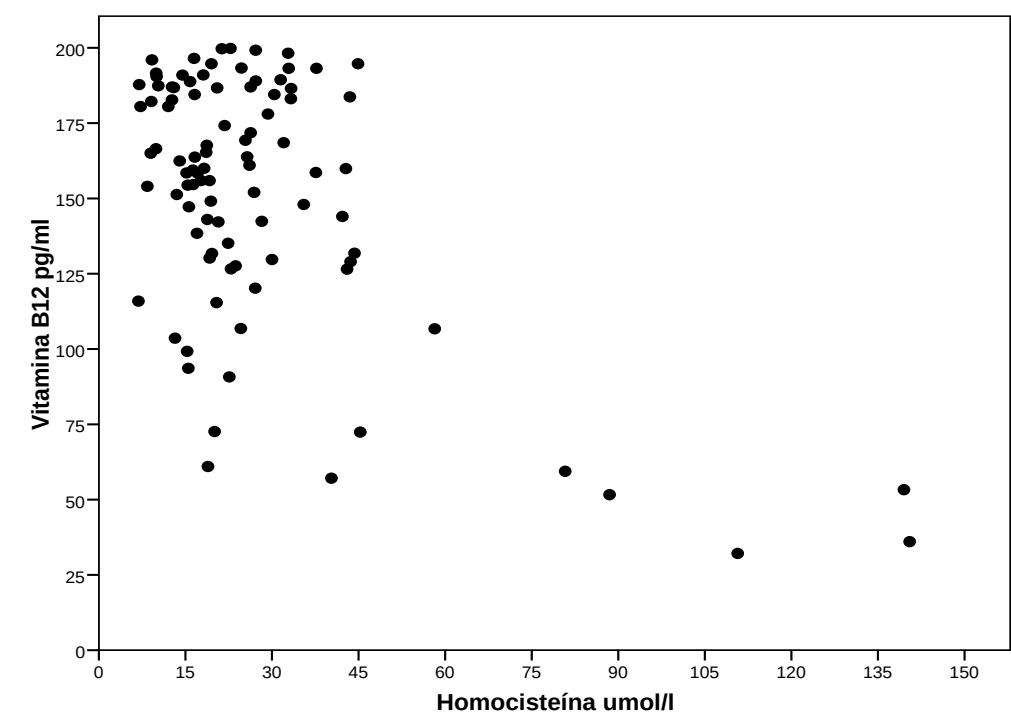


2.2 Homocisteína (Hcy)

Los niveles séricos de homocisteína en plasma oscilaron entre 6,8 y 321,7 $\mu\text{mol/L}$. La mayoría de los pacientes, 84 (79,2%), presentó hiperhomocisteinemia (homocisteína $>15 \mu\text{mol/L}$). Entre los pacientes con elevación de Hcy predominaron las mujeres con 52 (83,9%), frente a 32 varones (72,7%) sin ser la diferencia significativa ($p=0,16$) (**Tabla 48**).

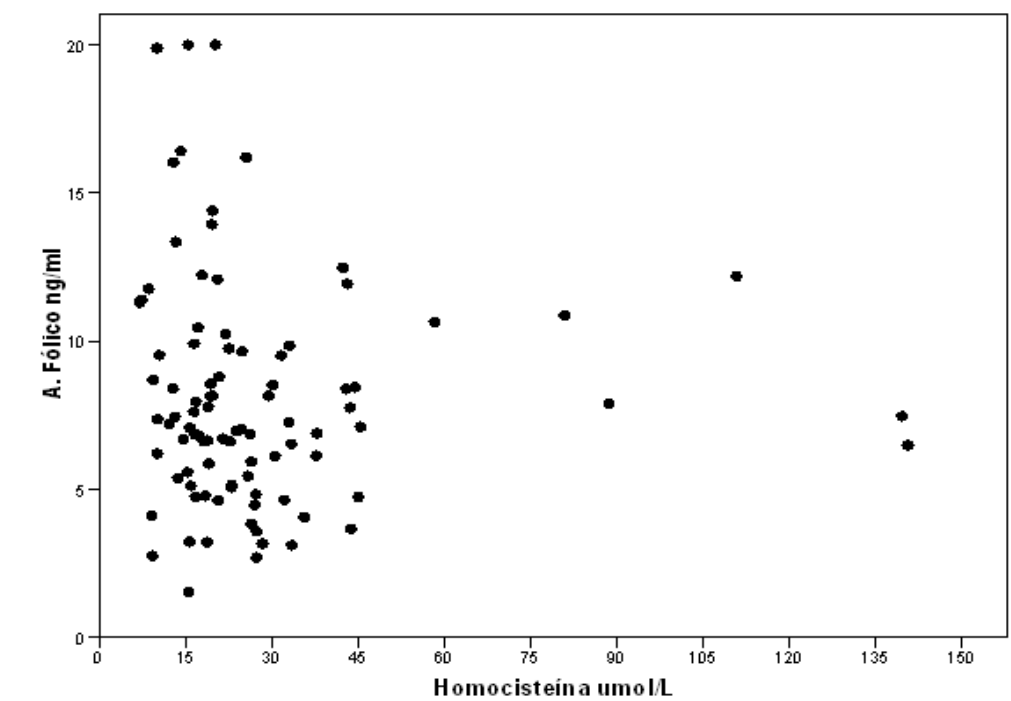
Los niveles de Hcy se correlacionaron de forma inversa significativa con los valores de Vitamina B12 en plasma ($p < 0,001$) (**Gráfica 5**) y de forma casi significativa con los de ácido fólico ($p=0,08$), pero no con la edad ($p=0,72$) (**Gráfica 6**).

Gráfica 5. Relación entre los niveles de homocisteína plasmática y Vitamina B12.



$p<0,001$

Gráfica 6. Relación entre los niveles de homocisteína plasmática y ácido fólico.



$p=0,008$

Tabla 48. Distribución de la homocisteína entre los casos de déficit de Cobalamina y los controles.

Niveles de Hcy en plasma	Casos n=106	Controles n=116	Total
Hcy <15 µmol/L	22 20,8%	93 80,2%	115 51,8%
Hcy >15 µmol/L	84 79,2%	23 19,8%	107 48,2%

En relación al **grupo control**, se observó una elevación de la Hcy en 23 controles (19,8%). A diferencia de lo que ocurrió en los pacientes con déficit de Vitamina B12, en los **controles** se observó un porcentaje significativamente superior de varones con elevación de homocisteína (34% de varones (17) vs 9% de mujeres (6); $p<0,001$). También los niveles de homocisteína se correlacionaron directamente con la edad ($p=0,003$) y de forma inversa con los niveles de Vitamina B12 ($p=0,01$) y ácido fólico ($p=0,006$).

Se clasificaron a los pacientes en función de los niveles de homocisteína en plasma. Se distinguieron cuatro grupos, 1) Normal: Niveles de homocisteína <15 µmol/L, 2) hiperhomocisteinemia leve: 15-29,9 µmol/L; 3) hiperhomocisteinemia moderada: 30-49,9 µmol/L y 4) hiperhomocisteinemia grave: ≥ 50 µmol/L. El número de pacientes incluido en cada grupo está representado en la **tabla 49**. La mayor parte de los pacientes (56, 52,8%), tenían hiperhomocisteinemia ligera.

Tabla 49. Distribución de los pacientes según los niveles de homocisteína en plasma. (n=106).

Valores de homocisteína	Niveles plasmáticos	n	%
Normal	<15 µmol/L	22	20,8
Elevación leve	15-29,9 µmol/L	56	52,8
Elevación moderada	30-49,9 µmol/L	21	19,8
Elevación grave	≥ 50 µmol/L	7	6,6

No se observaron diferencias significativas en los valores de homocisteína en función del sexo ($p=0,28$) o de la edad ($p=0,9$) (**Tabla 50 y 51**).

**Tabla 50. Distribución de los valores de homocisteína en función del sexo.
(n=106).**

Niveles de Hcy en plasma	Mujeres n=62		Hombres n=44		Total n=106		p
	n	%	n	%	n	%	
<15µmol/L	10	16,1	12	27,3	22	20,8	0,28
15-29,9 µmol/L	33	53,2	23	52,3	56	52,8	
30-49,9 µmol/L	13	21	8	18,2	21	19,8	
≥50 µmol/L	6	9,7	1	2,3	7	6,6	

**Tabla 51. Distribución de los valores de homocisteína en función de la edad.
(n=106).**

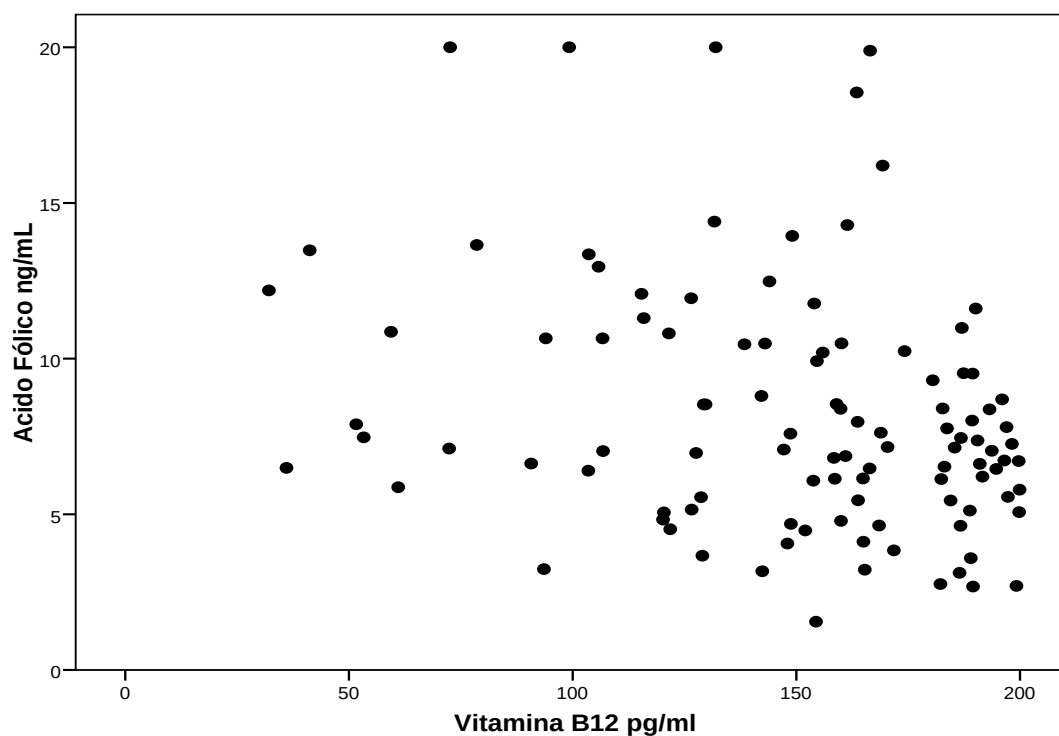
Niveles de Hcy en plasma	Rango de edades (años)					p
	60-69,9 n=14	70-79,9 n=51	80-89,9 n=34	>90 n=7	Total n=106	
<15 µmol/L	3 21,4%	9 17,6%	9 26,5%	1 14,3%	22 20,8%	0,9
15-29,9 µmol/L	7 50%	31 60,8%	14 41,2%	4 57,1%	56 52,8%	
30-49,9 µmol/L	2 14,3%	9 17,6%	8 23,5%	2 28,5%	21 19,8%	
≥ 50 µmol/L	2 14,3%	2 3,9%	3 8,8%	0 --	7 6,6%	

2.3 Ácido fólico

Los niveles de **ácido fólico** en plasma oscilaron entre un **valor mínimo** de 1,55 ng/mL y **un máximo** de 20 ng/mL, con un valor medio de 8,2 ng/mL (DE: 3,9).

Sólo 4 pacientes (3,4%) presentaron déficit de ácido fólico. Se observó una asociación inversa significativa entre los valores de Vitamina B12 y los valores de ácido fólico en plasma ($p= 0,002$) (**Gráfica 7**).

Gráfica 7. Relación entre los niveles de VitaminaB12 plasmática y ácido fólico.



$p=0,002$

3.- Antecedentes médicos

Como antecedentes más frecuentes de los pacientes estudiados cabe destacar la *hipertensión arterial (HTA)* que es el antecedente médico más frecuente de la muestra (69,7%), le siguen después la *diabetes mellitus tipo 2 (DM)* (47,1%); la *dislipemia (DLP)* (33,6%) y la *cardiopatía estructural* (50,4%), especialmente la *cardiopatía isquémica* (27,7%) (**Tabla 52**).

Tabla 52. Distribución por orden de frecuencia de los antecedentes médicos en los pacientes con déficit de Vitamina B12 (n=119).

Antecedentes	n	%
Hipertensión arterial (HTA)	83	69,7
Cardiopatía estructural:	60	50,4
• Isquémica	33	27,7
• Valvular	16	13,4
• Hipertensiva	10	18,4
Diabetes Mellitus (DM)	56	47,1
Dislipemia (DLP)	40	33,6
Insuficiencia cardíaca	37	31,1
Arritmia (sin especificar)	29	24,4
Neoplasia	23	19,3
Exfumador	23	19,3
Demencia	13	10,9
Exbebedor	10	8,4
Accidente cerebrovascular	9	7,6
Depresión	8	6,7
Disfunción tiroidea		
• Hipotiroidismo	8	6,7
• Hipertioridismo	3	2,5
EPOC	8	6,7
Arteriopatía periférica	7	5,9
Hepatopatía	4	3,2
Úlcus	3	2,5

4.- Tratamientos previos

De los 119 pacientes cabe destacar que 43 (36,1%) estaban recibiendo tratamiento con *inhibidores de la bomba de protones (IBP)* y 28 pacientes (23,5%) tomaban *metformina*.

Después de los *antiagregantes* (46, 38,7%), los IBP eran el grupo de fármacos más consumido seguido por los *diuréticos de asa*, los *antagonistas de los receptores de la*

angiotensina II (ARA-II) y las estatinas fueron los siguientes en frecuencia (30,3 y 29,4 y 27,7%, respectivamente) (Tabla 53).

Tabla 53. Distribución por orden de frecuencia del consumo de fármacos en los pacientes con déficit de Vitamina B12 (n=119).

Tratamiento previo	n	%
Antiagregantes:	56	38,7
• Clopidogrel	10	8,4
• Otros	46	30,3
IBP:	43	36,1
• Omeprazol	29	24,4
• Otros IBP	14	11,7
Diuréticos de asa	36	30,3
ARA II	35	29,4
Estatinas	33	27,7
Metformina	28	23,5
IECAs	25	21
Calcio antagonistas	23	19,3
Beta-bloqueantes	23	19,3
Hipnóticos	20	16,8
Diuréticos	13	10,9
Vitaminas:	9	7,6
• Vitamina B12	5	4,2
• Otras vitaminas	4	3,4
Laxantes	9	7,6
Alfa-bloqueantes	7	5,9
Anticomiciales	3	2,5
Antiparkinsonianos	2	1,6
Antipsicóticos	1	0,8

Abreviaturas: **IBP:** Inhibidores de la bomba de protones. **ARA II:** Antagonistas de los receptores de la angiotensina 2. **IECAs:** Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina.

5.- Diagnósticos al alta

Los diagnósticos al alta más frecuentes fueron la cardiopatía estructural en 62 pacientes (52,1%), la insuficiencia cardiaca en 45 (37,8%) y las infecciones respiratorias y del tracto urinario en 55 (46,2%). Nueve pacientes (7,6%) presentaron accidente cerebrovascular y 4 pacientes (3,4%) trombosis venosa profunda. La anemia se expresó como diagnóstico al alta en 43 pacientes (36,1%) (Tabla 54).

El diagnóstico de déficit de Vitamina B12 sólo se expresó en 77 informes de alta (64,7%). El 88% de los casos (37/42) en los que no figuraba este diagnóstico presentaban niveles de Vitamina B12 en plasma entre 161 y 199,9 mg/dL.

Tabla 54. Distribución por orden de frecuencia de los diagnósticos al alta en los pacientes con déficit de Vitamina B12 (n=119).

Diagnósticos al alta	n	%
Déficit de Vitamina B12	77	64,7
Cardiopatía estructural:	62	52,1
• Isquémica	27	22,7
Infecciones	55	46,2
• Infección respiratoria	26	21,8
• Infección del tracto urinario	16	13,4
• Neumonía	11	5
Insuficiencia cardíaca (IC)	45	37,8
Desnutrición	44	33
Anemia	43	36,1
Fibrilación auricular	34	28,6
Insuficiencia renal	25	21,1
Neoplasia	17	14,3
Obesidad	16	13,4
Demencia	15	12,6
Accidente cerebrovascular	9	7,6
EPOC	7	5,9
Trombosis venosa profunda	4	3,4
Hepatopatía crónica	2	1,7
Pancreatitis crónica	2	1,7
E. de Parkinson	2	1,7

Abreviatura: EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

6.- Tratamientos farmacológicos al alta

En un porcentaje muy elevado de los pacientes, 94 de 119 (79%) se les prescribió al alta tratamiento con IBP.

Sin embargo, sólo en el 70,5% de los casos se prescribió tratamiento sustitutivo con *Vitamina B12*. En todos los casos se indicó tratamiento sustitutivo vía intramuscular.

7.- Alteraciones clínicas y analíticas en los pacientes con déficit de Vitamina B12

7.1 Manifestaciones hematológicas

El valor medio de la *hemoglobina* en fue de 11,1 g/dL (rango de 6,7 a 16,4). Se objetivó la presencia de anemia siguiendo los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 83 pacientes (69,7%).

La anemia combinada por déficit de Vitamina B12 y ferropenia se observó en 11 pacientes (13,2%). Las patologías que se asociaron con más frecuencia a este tipo de anemia fueron la gastritis crónica autoinmune y la infección por H. Pylori (6 y 4 pacientes respectivamente).

La **anemia** fue significativamente más frecuente en los varones 41/51 (80,4%) que en las mujeres 42/68 (61,8%) ($p=0,029$). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en el porcentaje de pacientes con anemia en función de la edad ($p=0,45$) (**Tabla 55**).

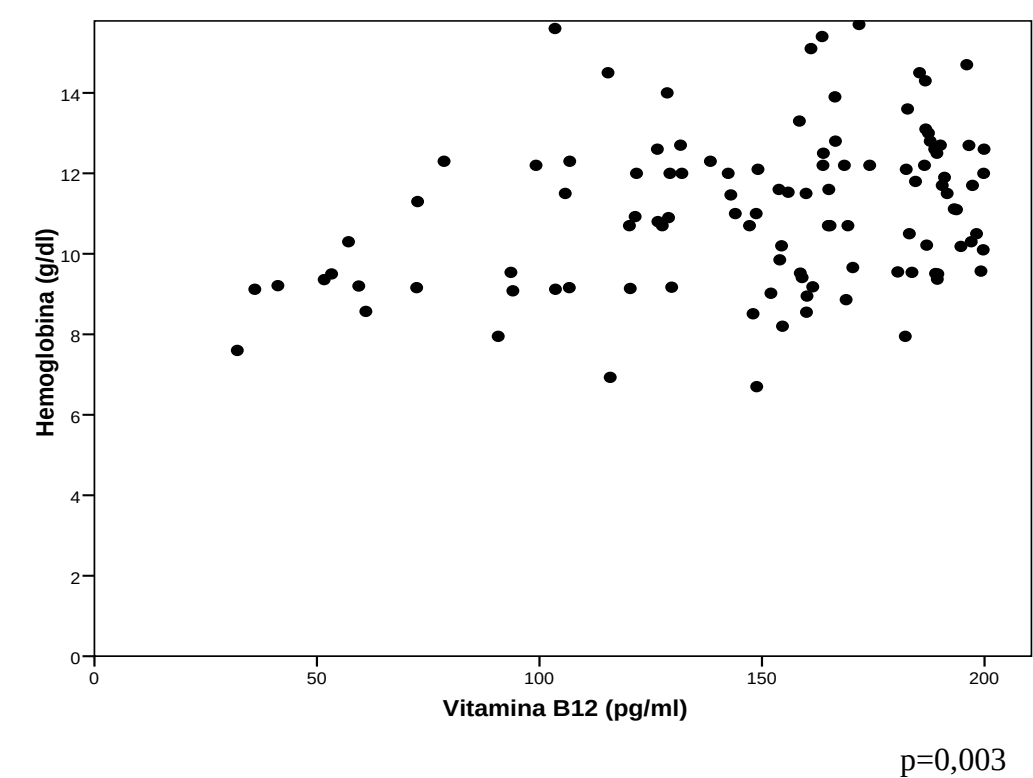
Tabla 55. Clasificación de los pacientes con anemia según grupos de edad. (n=119).

Rango de edades (años)	TOTAL n=119	60-69 n=18	70-79 n=57	80-89 n=37	>=90 n=7	p
Anemia (%)	83 (69,7%)	13 (72,2%)	37 (64,9%)	27 (73%)	6 (85,7%)	0,45

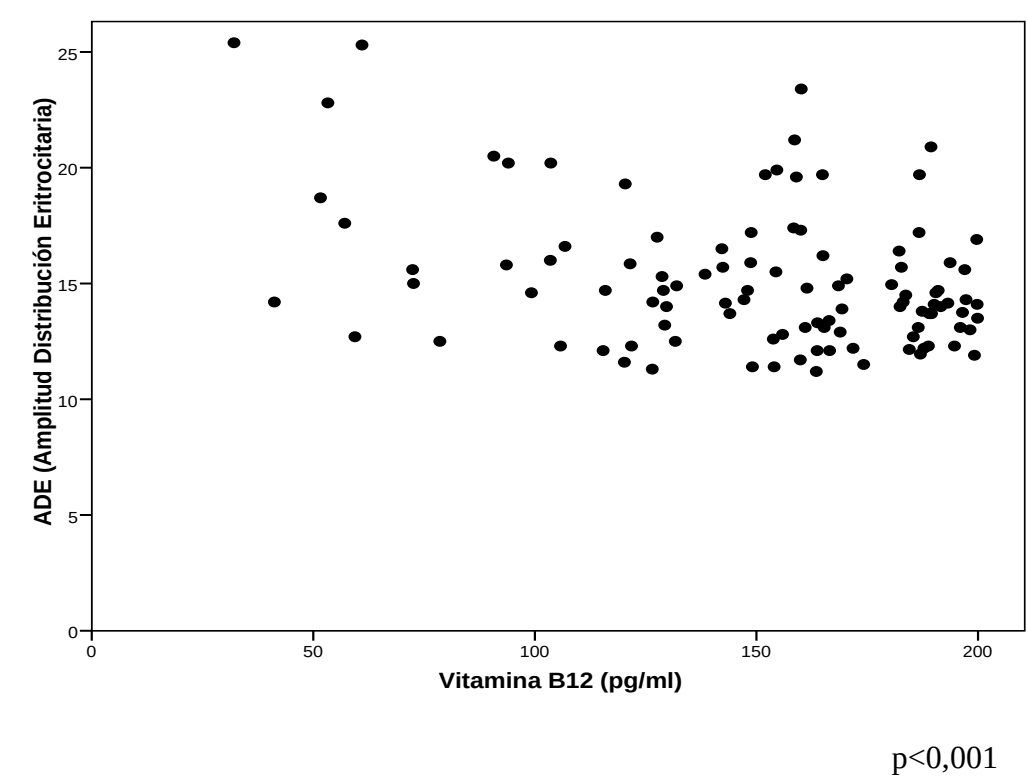
En cuanto a la amplitud de distribución eritrocitaria (ADE), el valor medio fue 15,3% (DE: 3,6), con un rango de 11,2 a 32,5%.

Los valores plasmáticos de Vitamina B12 se correlacionaron directamente con los valores de hemoglobina ($p=0,003$) (**Gráfica 8**), y de forma inversa con la amplitud de distribución eritrocitario ($p<0,001$) (**Gráfica 9**).

Gráfica 8. Relación entre los niveles de VitaminaB12 plasmática y hemoglobina.



Gráfica 9. Relación entre los niveles de VitaminaB12 plasmática y amplitud de distribución eritrocitaria.



No se observó correlación entre los niveles de Cobalamina y la cifra de leucocitos totales ($p=0,66$), pero si se observó una correlación inversa entre los niveles de Vitamina B12 y el número de linfocitos ($p=0,024$).

En relación con **otras manifestaciones hematológicas**, 20 pacientes (16,8%) mostraron *macrocitosis* y un número similar *trombopenia*. En 15 pacientes (12,6%) se observó *megaloblastosis* y en 9 (7,6%) *hipersegmentación de neutrofilos* (**Tabla 56**). Se observó una correlación inversa entre los valores de Vitamina B12 y el volumen corpuscular medio (VCM) ($p=0,003$) y una correlación directa, casi significativa entre los valores de Cobalamina y la cifra de plaquetas ($p=0,059$).

También se observó una asociación inversa significativa entre los valores de la Vitamina B12 y la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) ($p<0,001$).

Tabla 56. Manifestaciones hematológicas relacionadas con el déficit de Vitamina B12. (n=119).

Manifestaciones hematológicas		n	%
Comunes	LDH elevada	108	93
	Anemia	83	69,7
	Macrocitosis	20	16,8
	Hipersegmentacion de neutrofilos	15	12,6
	Megaloblastosis	9	7,5
Raras	Trombocitopenia	20	16,8
	Neutropenia	4	8,69
	Pancitopenia	3	6,52
Infrecuentes	Anemia hemolítica microangiopática	-	-
	Microangiopatía Pseudotrombótica	-	-

En relación a la presencia de **ferropenia**, en 14 pacientes (11,8%) se objetivó un patrón de hierro con disminución de los niveles de *ferritina* (<25 ng/mL) e *índice de saturación de transferrina (IST)* bajo ($<15\%$). El *volumen corpuscular medio (VCM)* de los pacientes con ferropenia fue significativamente inferior que el de los pacientes sin ella (84 vs 94,8 fL; $p=0,001$). Ninguno de los pacientes con bajos depósitos de hierro mostró elevación del VCM por encima de 100 fL, siendo la diferencia significativa

($p=0,02$). Sin embargo, el porcentaje de pacientes que presentaron anemia en ambos grupos fue similar (78,6% en los pacientes con ferropenia y 84,6% en los pacientes sin ella, ($p=0,59$). Por tanto, 14 pacientes de nuestra serie (11,8%) presentaron un déficit combinado de Vitamina B12 y hierro, de los cuales 11 presentaban anemia (78,6%).

Las **manifestaciones no hematológicas** más frecuentes en los pacientes con déficit de Vitamina B12 son el resultado de las descritas en la literatura como "*aún en estudio*", presentándose en 89 pacientes (74,7%).

Entre éstas y en orden decreciente de frecuencia se situaron: el *deterioro cognitivo* con 32 pacientes (26,8%), el *síndrome depresivo* con 25 pacientes (21%), el *ictus* con 17 pacientes (14,2%) y la *enfermedad de Parkinson* con 15 pacientes (12,6%).

A las llamadas manifestaciones en estudio le continuaron en frecuencia las manifestaciones reportadas como "*comunes o clásicas de etiología neurológica*" con 48 pacientes (40,3%), en este grupo se encontraron, 22 pacientes (18,4%) con *polineuropatía*, 12 pacientes (10,1%) con *esclerosis combinada subaguda* y 10 pacientes (8,5%) con *signo de Babinski*.

La *glositis de Hunter* se encontró sólo en 3 de los pacientes. Dentro de las "*manifestaciones raras*", sólo se encontraron 7 pacientes, 5 de los cuales con *incontinencia urinaria* (4,2%) y 2 pacientes (1,6%) con *incontinencia fecal* (**Tabla 57**).

Tabla 57. Manifestaciones no hematológicas relacionadas con el déficit de Vitamina B12. (n=119)

Manifestaciones no hematológicas		n	%
Comunes/Clásicas	Neurológicas	48	40,3
	Polineuritis	22	18,4
	Esclerosis combinada subaguda	12	10,1
	Babinski	10	8,4
	Ataxia	4	3,36
	Digestivas	3	2,5
	Glositis de Hunter	3	2,5
	Ictericia	0	-
	Total	51	42,8
Raras	Incontinencia urinaria	5	4,2
	Incontinencia fecal	2	1,6
	Neurológicas	0	-
	Síndrome cerebeloso	0	-
	Total	7	5,8
En estudio	Neuropsiquiátricas	89	74,7
	Deterioro cognitivo	32	26,8
	Síndrome depresivo	25	21
	Ictus	17	14,2
	Enfermedad de Parkinson	15	12,6
	Esclerosis múltiple	0	-

8.-Aproximación etiológica del déficit de Vitamina B12

Dentro de las **causas conocidas** relacionadas con el déficit de Vitamina B12, en nuestro estudio la *gastritis atrófica no autoinmune* resultó ser la causa más frecuente (20,1%).

La *anemia perniciosa* pudo demostrarse en 13 casos (10,9%) y la *ingesta insuficiente* en 5 casos (4,2%). Ningún paciente era vegetariano. Sólo 2 pacientes de los 119 (1,6%) tenían el antecedente de *cirugía gástrica previa* (uno de ellos según la técnica Billroth I y el otro con la técnica Billroth II) (**Tabla 58**).

Tabla 58. Aproximación etiológica de los pacientes con déficit de Vitamina B12. (n=119)

	n	%
Gastritis atrófica no autoinmune	24	20,1
Anemia perniciosa	13	10,9
Ingesta insuficiente	5	4,2
Gastrectomía	2	1,6
Síndrome de Sjögren	1	0,8

Se realizó *endoscopia digestiva alta (EDA)* a 32 de los 119 pacientes (26,8%), efectuándose biopsia a 28 de ellos (23,5% del total y 87,5% de los pacientes sometidos a endoscopia). Se observó *atrofia gástrica no autoinmune* en 24 casos (20,1% del total y 75% de endoscopias) y *displasia* en 5 (4,2% del total y 15,6% de los sometidos a endoscopia), coexistiendo con atrofia en 4 de ellos.

La realización de EDA se relacionó con una menor edad (74,2 años vs 78,3; $p=0,010$), y con menores niveles de Vitamina B12 (133,2 pg/mL vs 156,8 pg/mL; $p=0,029$), pero no con los valores de hemoglobina (10,8 vs 11,2 g/dL; $p=0,49$), ni con la presencia de anemia ($p=0,8$). La realización de *biopsia gástrica* se relacionó con valores mayores del VCM (97,7 vs 85,3 fL, $p=0,001$) y con mayores valores de ferritina (276,5 vs 78,9 ng/mL; $p=0,024$). Los pacientes con atrofia o displasia no mostraron diferencias significativas en los valores de Vitamina B12, hemoglobina, VCM o edad.

Presentaron *anticuerpos anticélulas parietales* 23 pacientes (19,3%) de los 72 en que se realizó estudio de autoinmunidad (31,9%) y *anticuerpos anti factor intrínseco* en 13 (10,9% del total y 18,1% de los casos evaluados). Se observó la coexistencia de ambos anticuerpos en 7 pacientes.

Se realizó *serología de H. Pylori (HP)* en 109 pacientes, siendo positiva en 46 (42,2%). En ningún paciente de los que se efectuó la biopsia se detectó esta infección. Los pacientes con serología HP positiva mostraron unos valores de Vitamina B12 significativamente superiores (162,4 vs 142,8 pg/mL; $p=0,012$) y una menor frecuencia de positividad de anticuerpos frente a factor intrínseco y/o células parietales (18,5% vs 47,4%; $p=0,017$). La prevalencia de serología positiva de HP fue significativamente más frecuente en varones (62,5%) que en mujeres (26,2%), ($p<0,001$).

No se observó diferencia en los niveles de Hb en función de la presencia o no de esta infección (Hb: 11,4 g/dL vs 10,9 g/dL; $p=0,21$), ni en la prevalencia de ferropenia en función de la presencia de esta infección. Los 3 pacientes que presentaron déficit de ácido fólico mostraron una serología positiva para HP ($p= 0,039$). Sólo 27 pacientes (58,7%) recibieron tratamiento erradicador de la infección por *H. Pylori*.

En relación a otras **condiciones** que pueden favorecer una deficiencia de Vitamina B12, los fármacos relacionados con la malabsorción de la Vitamina B12 fueron el grupo más prevalente. Dentro de éstos, los IBP fueron los fármacos más consumidos (36,1%). El abuso de alcohol fue la segunda situación más frecuente (10 pacientes, 8,4%). Únicamente 2 pacientes padecían pancreatitis crónica (1,6%) (**Tabla 59**).

Tabla 59. Condiciones asociadas al déficit de Vitamina B12. (n=119)

	n	%
Fármacos:		
• IBP	43	36,1
• Aspirina	41	34,4
• Metformina	28	23,5
• IECAS	25	21
• Ranitidina	2	1,6
Abuso de alcohol	10	8,4
Pancreatitis crónica	2	1,6

Abreviaturas: IBP: Inhibidores de la bomba de protones. IECAs: Inhibidores de la enzima convertidora de Angiotensina.

No se observó relación entre el consumo previo de IBP y el déficit de Vitamina B12 (157,6pg/mL vs 147,7 pg/mL; $p=0,21$). Tampoco se observó diferencia en los valores de Cobalamina en función de que los pacientes estuvieran recibiendo tratamiento con metformina o no (152 pg/ml vs 151 pg/mL; $p=0,9$).

9.- Polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-Metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR)

Entre los 119 **pacientes** con déficit de Vitamina B12 se encontraron 52 (47,7%) que presentaron la *forma CC*, del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR, otros 52 pacientes presentaron la *forma CT* y 15 pacientes (12,6%) presentaron la *forma TT* de este gen. Por tanto, de forma global predominaron las formas anómalas de expresión de este polimorfismo en 67 pacientes (60,3%) (**Tabla 60**).

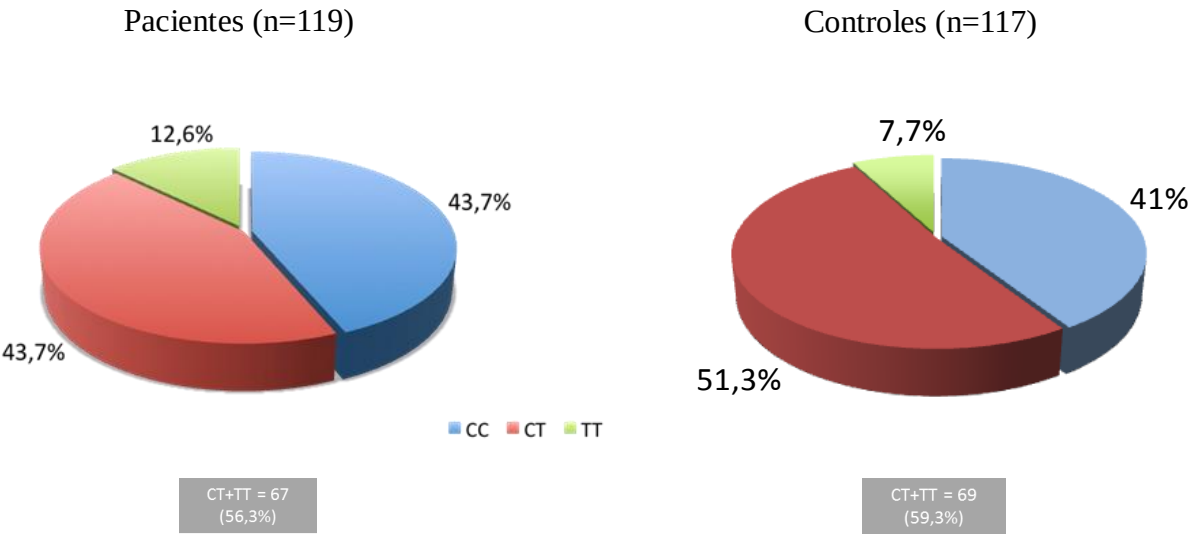
En el **grupo control**, formado por 117 individuos, predominaron los pacientes con la *forma heterocigótica* (CT) del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR con 60 pacientes (51,3%) seguidos de 48 pacientes (41%) que presentaban la *forma CC* de este polimorfismo y solamente 9 pacientes (7,7%) presentaron la *forma homocigótica* (TT). De forma global, al igual que en los casos con déficit de Vitamina B12, predominaron las formas anómalas (CT+TT) con 69 controles (59%) (**Tabla 60. Gráfica 10**).

Tabla 60. Distribución del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR en los pacientes con déficit de Vitamina B12 y en los controles.

Polimorfismo C677T del gen de la MTHFR		Déficit de Vit. B12 n=119		Controles n=117		P
1	TT (Patológico)	15	12,6%	9	7,7%	0,3
2	CT	52	43,7%	60	51,3%	
3	CC (Normalidad)	52	43,7%	48	41%	
1+2	TT+CT	67	60,3%	69	59%	

Aunque la *forma TT* fue más frecuente en los pacientes con déficit de Vitamina B12 (12,6%) que en el grupo control (7,7%), la diferencia no alcanzó la significación estadística (p=0,3).

Gráfica 10. Distribución del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR en los pacientes con déficit de Vitamina B12 y en los controles.



9.1 Relación entre las distintas formas del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-Metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) con los niveles de Vitamina B12 y homocisteína en plasma

Entre los **pacientes** con déficit de Vitamina B12 cuando se compararon los *niveles de Vitamina B12* en función del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR, el valor medio de la Cobalamina fue inferior en los pacientes con la *forma CT*. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en los valores medios de Cobalamina entre los distintos grupos, ni en el grupo de pacientes ($p=0,21$), ni en el grupo de controles ($p=0,57$). En cuanto a los valores de *homocisteína*, el grupo de pacientes con la *forma CT* del polimorfismo C677T de la enzima 5,10-MTHFR, mostró los niveles más elevados de Hcy, y valores más bajos de Cobalamina. Sin embargo, la diferencia no alcanzó la significación estadística ($p=0,12$) (**Tabla 61**).

En **los controles** se observaron unos niveles de homocisteína en plasma significativamente superiores en el grupo que presentaba la *forma TT* siendo la diferencia estadísticamente significativa mediante el análisis de la varianza ($p= 0,022$). Las diferencias se establecieron con el *grupo CC* ($p=0,017$) y rozaron la significación con la *forma CT* ($p=0,069$) (**Tabla 62**).

Tabla 61. Valores de Vitamina B12 y homocisteína en función del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR en el grupo de casos (n=119)

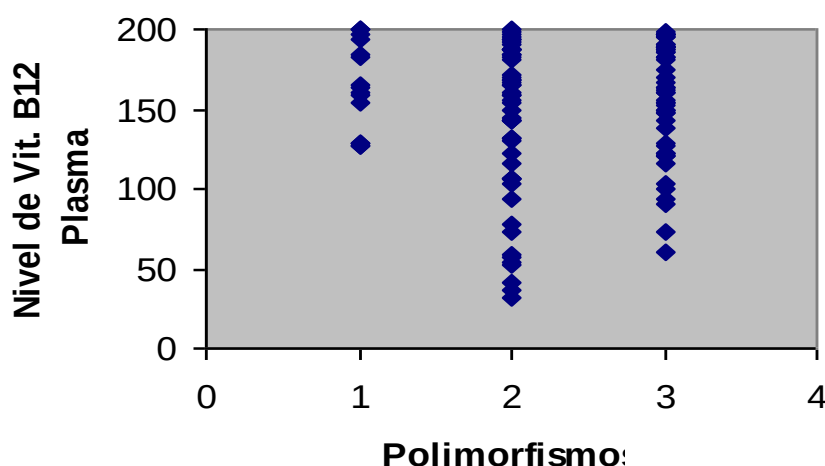
	CC n=52	CT n=52	TT n=15	P
Vitamina B12 pg/mL ± Media (DE)	156,7 ± 34,6	143,6 ± 50,2	159,1 ± 32,7	0,21
Homocisteína µmol/L ± Media (DE)	23,8 ± 14,4	37,8 ± 52,1	22,2 ± 9,3	0,12

Tabla 62. Valores de Vitamina B12 y homocisteína en controles en función del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR en el grupo control (n=117)

	CC n=48	CT n=60	TT n=9	P
Vitamina B12 pg/mL ± Media (DE)	497,1 ± 212,8	470,3 ± 181,3	541,6 ± 229,9	0,57
Homocisteína µmol/L ± Media (DE)	11,9 ± 3,7	12,8 ± 3,8	15,8 ± 4,2	0,002

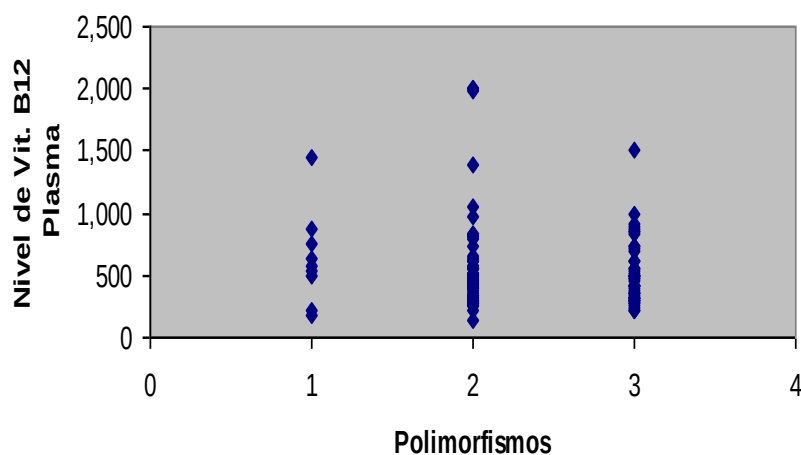
En el **gráfico 6** se puede observar el rango de valores de Vitamina B12 en plasma, que osciló entre 120-199,9 pg/mL en los pacientes con la *forma TT del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR* entre 30-199,9 pg/mL en los pacientes con la *forma CT* y entre 60-199,9 pg/mL en los pacientes con la *forma CC*.

Gráfico 6. Niveles de Vitamina B12 y polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR en el grupo de pacientes con déficit de Vitamina B12 (n=119).



En el **gráfico 7** se puede observar el comportamiento de los valores de la Vitamina B12 en función del polimorfismo del gen de la enzima 5,10-MTHFR en el grupo control.

Gráfico 7. Niveles de Vitamina B12 y formas del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR en el grupo de controles sin déficit de Vitamina B12 (n=117).



Abreviaturas: Polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR: 1.- TT; 2.- CT y 3.- CC.

9.2 Relación entre las distintas formas del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-Metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) y la presencia de anemia en los pacientes con déficit de Vitamina B12

En relación con el comportamiento del polimorfismo C677T de la enzima 5,10-MTHFR y la presencia de anemia en los **pacientes** con déficit de Vitamina B12, 83 pacientes (69,7%) presentaron *anemia*. Ésta resultó ser más frecuente en el grupo con la forma *TT* (80%, 12 pacientes) que en los otros grupos (63 y 73%) pero sin alcanzar la significación estadística ($p=0,37$) (**Tabla 63**).

Tabla 63. Distribución de las distintas formas del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR y casos de anemia en el grupo de pacientes con déficit de Vitamina B12 (n=119).

	CC n=52	CT n=52	TT n=15	p
Anemia (83) (%)	33 (63,5%)	38 (73,1%)	12 (80%)	0,37
No anemia (36) (%)	19 (36,5%)	14 (26,9%)	3 (20%)	

Al agrupar los pacientes con las formas *CT* y *TT*, y compararla con los pacientes con la forma *CC*, los valores de hemoglobina del primer grupo fueron inferiores a los del segundo grupo (10,8 g/dL vs 11,6 g/dL, $p=0,052$) de forma casi significativa.

En consonancia con lo anterior, el porcentaje de pacientes con anemia en el primer grupo, (formas *CT* ó *TT*) fue de un 74,6% frente al 63,5% del grupo que presentaba la forma *CC*, sin alcanzar la significación estadística.

Sin embargo, al considerar los pacientes en los que el motivo de ingreso fue la presencia de anemia, si se observó que los pacientes con las formas *CT* ó *TT* del polimorfismo C677T de la enzima 5,10-Metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) ingresaron con más frecuencia por este motivo de manera significativa ($p=0,046$; 3,8%, vs 14,9%). (**Tabla 64**).

Tabla 64. Distribución de los pacientes según las formas del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR y según el motivo de ingreso (anemia u otros) (n=119).

Motivo de Ingreso	Polimorfismo C677 del gen de la enzima 5,10-MTHFR		Total n=119	P
	CC n=52	CT o TT n=67		
Anemia (%)	2 (3,8%)	10 (14,9%)	12 (10%)	0,04
Otro motivo (%)	50 (96,2%)	57 (85,1%)	107 (90%)	

10.- Relación entre el déficit de Vitamina B12 y la aparición de eventos cardiovasculares, reingresos o éxitos en los pacientes estudiados

No se observaron diferencias significativas entre los antecedentes personales, incluyendo enfermedades cardiovasculares o el motivo de ingreso en función de la presencia de los distintas formas del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR a excepción del motivo de ingreso por anemia, el cual se presentaba con más frecuencia entre los pacientes con las *formas CT ó TT*, como ya se mencionó anteriormente (p=0,046).

Los pacientes con las formas CT o TT no presentaron con mayor frecuencia los diagnósticos o antecedentes de cardiopatía isquémica, accidente cerebrovascular, arteriopatía periférica o trombosis venosa profunda (**Tabla 65**).

Tabla 65. Patologías vasculares y formas genotípicas del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR en el grupo de pacientes (n=119).

	Polimorfismo CC n=52	Polimorfismo CT o TT n=67	P
Cardiopatía isquémica *	16 (30,8%)	25 (37,3%)	0,46
ACV*	9 (17,3%)	11 (16,4%)	0,89
Arteriopatía*	3 (5,8%)	4 (6,0%)	0,96
TVP*	3 (3,8%)	2 (3,0%)	0,79

*Antecedente o diagnóstico durante el ingreso.

ACV: Accidente cerebrovascular. TVP: Trombosis venosa profunda

Reingresos

Reingresaron 43 pacientes, 19 por causa cardiovascular. De los 43 pacientes que reingresaron, 40 tenían niveles plasmáticos elevados de homocisteína y 3 presentaban niveles normales ($p=0,004$) (**Tabla 66**). Los reingresos por causa cardiovascular no se asociaron con niveles de homocisteína alta ($p=0,22$) (**Tabla 67**).

Tabla 66. Reingreso por cualquier causa y niveles de homocisteína plasmática (n=106).

	Hcy <15 µmol/L	Hcy >15 µmol/L	TOTAL	p
No reingreso	19 (86,4%)	44 (52,4%)	63 (59,4%)	0,004
Reingreso	3 (13,6%)	40 (47,6%)	43 (40,6%)	
TOTAL	22 (20,7%)	84 (79,2%)	106	

Tabla 67. Reingreso por causa cardiovascular y niveles de homocisteína plasmática (n=106).

	Hcy <15 µmol/L	Hcy >15 µmol/L	TOTAL	p
No reingreso	20 (90,9%)	67 (79,8%)	87 (82,1%)	0,22
Reingreso	2 (9,1%)	17 (20,2%)	19 (17,9%)	
TOTAL	22 (20,7%)	84 (79,2%)	106 (100%)	

Los reingresos por causa cardiovascular tampoco se asociaron con las formas genotípicas CC frente a las formas anómalas CT+TT ni con la forma TT ($p=0,36$ y $p=0,32$) (**Tabla 68 y 69**).

Tabla 68. Reingreso por causa cardiovascular y formas genotípicas del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5-10 MTHFR (n=119).

	No reingreso CV	Reingreso	TOTAL	p
CC	40 (41,7%)	12 (52,2%)	52 (43,7%)	0,36
CT+TT	56 (58,3%)	11 (47,8%)	67 (56,3%)	
TOTAL	96 (80,7%)	23 (19,3%)	119 (100%)	

Tabla 69. Reingreso por causa cardiovascular y forma TT del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5-10 MTHFR (n=119).

	No reingreso CV	Reingreso	TOTAL	p
No TT	83 (86,5%)	21 (91,3%)	104 (87,4%)	0,32
TT	13 (13,5%)	2 (8,7%)	15 (12,6%)	
TOTAL	96 (80,7%)	23 (19,3%)	119 (100%)	

11.- Exitus durante el ingreso y en el seguimiento

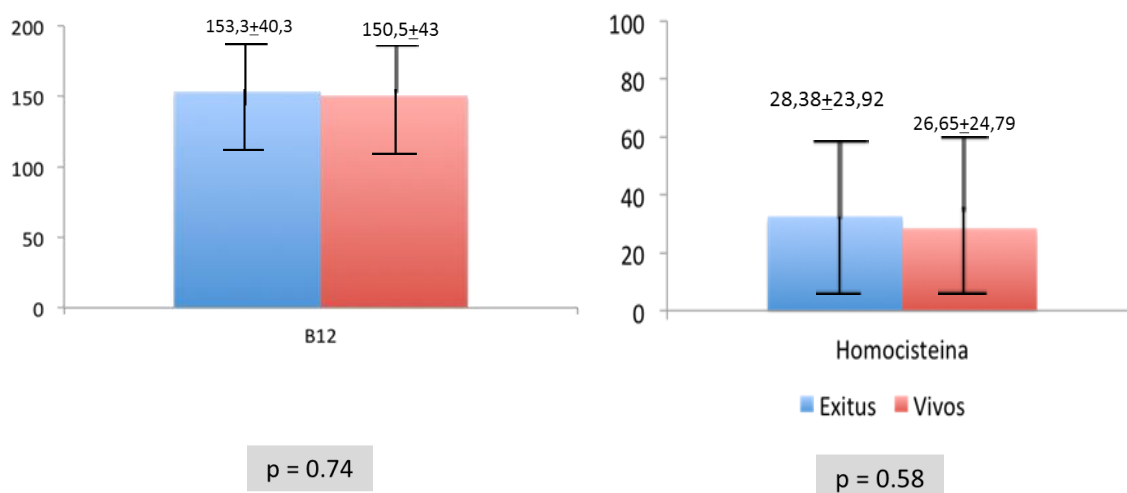
Durante su estancia hospitalaria sólo fallecieron dos pacientes (1,7%). Ambos pacientes presentaban *la forma CC* del polimorfismo C677T del gen de la enzima MTHFR.

En los cuatro años de seguimiento (2006-2010) se documentaron 34 fallecimientos (28,6%). Los valores de Vitamina B12 en plasma fueron similares en ambos grupos (fallecidos y no fallecidos) sin obtenerse la significación estadística (153,3 pg/mL vs 150,5 pg/mL; $p=0,74$) (**Tabla 70 y Gráfica 11**). Las cifras de homocisteína en plasma fueron mayores en el grupo de pacientes fallecidos, sin ser la diferencia significativa ($p=0,58$) (**Tabla 73**).

Tabla 70. Niveles medios de Vitamina B12 y homocisteína y muertos vs vivos. (n=119)

	Muertos n=34	Vivos n=85	p
Vitamina B12 (pg/mL) Media $\pm$ DE	153,3 $\pm$ 40,3	150,5 $\pm$ 43	0,74
Homocisteína (μg/L) Media $\pm$ DE	32,5 $\pm$ 24,8	28,4 $\pm$ 24	0,58

Gráfica 11. Niveles medios de Vitamina B12 y homocisteína y muertos vs vivos. (n=119)



No se observó relación entre las distintas formas del polimorfismo C677T de la enzima 5,10-MTHFR con la mortalidad tras el alta hospitalaria ($p=0,44$, $p=0,86$) (Tabla 71-72. Gráfica 12).

Tabla 71. Mortalidad durante el seguimiento y formas genotípicas del polimorfismo C677T del gen de la MTHFR (n=119).

	Vivos	Muertos	TOTAL	p
CC	39 (45,9%)	13 (38,2%)	104 (87,4%)	0,44
CT-TT	46 (54,1%)	21 (61,8%)	15 (12,6%)	
TOTAL	85 (71,4%)	34 (28,6%)	119 (100%)	

Tabla 72. Mortalidad durante el seguimiento y forma TT del polimorfismo C677T del gen de la MTHFR (n=119).

	Vivos	Muertos	TOTAL	p
No TT	74 (87,1%)	30 (88,2%)	104 (87,4%)	0,86
TT	11 (12,9%)	4 (11,8%)	15 (12,6%)	
TOTAL	85 (71,4%)	34 (28,6%)	119 (100%)	

Gráfica 12. Mortalidad durante el seguimiento y formas genotípicas del polimorfismo C677T del gen de la MTHFR (n=119).

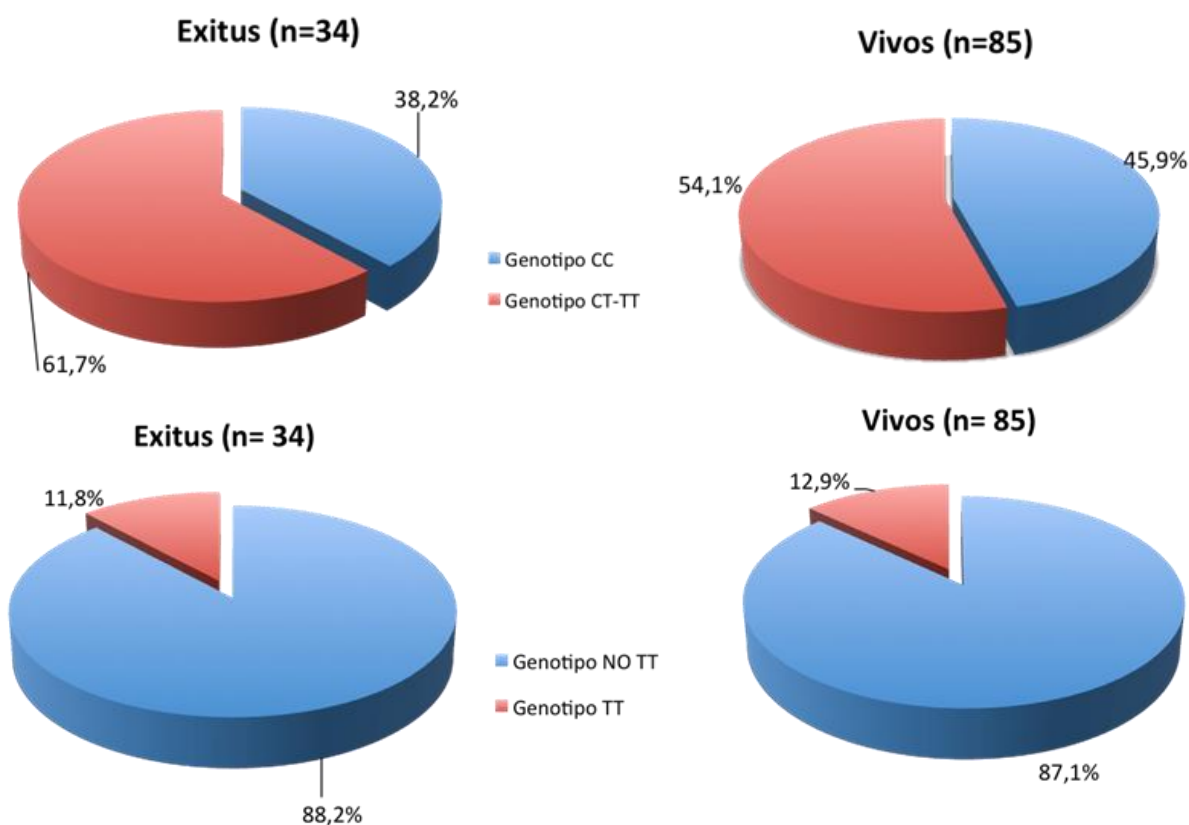
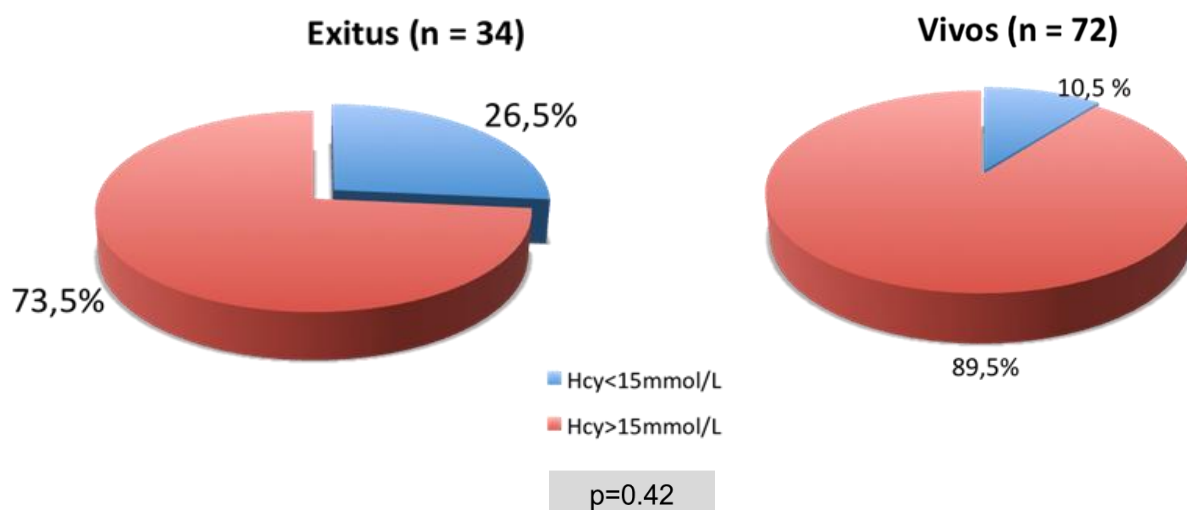


Tabla 73. Mortalidad durante el seguimiento y niveles de homocisteína (n=119).

	Vivos	Muertos	TOTAL	p
Hcy < 15 μ mol/L	74 (87,1%)	30 (88,2%)	104 (87,4%)	0,32
Hcy > 15 μ mol/L	11 (12,9%)	4 (11,8%)	15 (12,6%)	
TOTAL	85 (71,4%)	34 (28,6%)	119 (100%)	

Los pacientes que fallecieron presentaron niveles del ancho de distribución eritrocitario (*ADE*) significativamente superiores a los pacientes que sobrevivieron (16,4% vs 14,5%; $p=0,028$) y cifras de linfocitos significativamente inferiores (1248/ μ L vs 1619/ μ L; $p=0,036$).

Gráfica 13. Mortalidad durante el seguimiento y niveles de homocisteína (n=119).



E. DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

1. PREVALENCIA DEL DÉFICIT DE VITAMINA B12 Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO

ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO

Desde la década de los 90 varios grupos de trabajo de distintos países del mundo han evidenciado que el déficit de Vitamina B12 es un problema frecuente que afecta a la población general (Pennypacker LC, 1992; Baik HW, 1999; Dharmarajan TS, 2000, Rajan S, 2002; Clarke R, 2003; Figlin E, 2003; Wolters M, 2004; Hin H, 2006; Evatt ML, 2010; Johnson MA, 2010; Lee-Guzman C, 2011) (**Tablas 37-42**). De hecho, el CDC (Centers for Disease Control and Prevention) reconoce en un número monográfico publicado en el año 2010 que estamos ante un verdadero problema de salud pública (Evatt ML, 2010). En dicha revisión se indica que la prevalencia de déficit de Vitamina B12 en mayores de 51 años es del 3,2%. Sin embargo y aún a día de hoy, la prevalencia real en la población general no se conoce con exactitud, y según distintas estimaciones el déficit “real” podría variar entre un 5 y un 40% (Hao L, 2007; Vogiatzoglou A, 2009; Gilsing AM, 2010, Dali-Youcef N, 2009; Xavier JM, 2010; Lee-Guzman C, 2011; Iqbal MP, 2005). Así, por ejemplo, mientras el estudio de Framingham reveló una prevalencia del 12% entre los pacientes mayores que vivían en la comunidad (Lindenbaum J, 1994), otros estudios en pacientes ambulatorios han objetivado prevalencias que han alcanzado un 30% (Clarke R, 2007) o incluso han superado el 40% (Olivares M, 2000; Wolters M, 2003). Por otra parte si distinguimos entre déficit clínico (p.e anemia megaloblástica) y déficit subclínico las cifras de prevalencia son muy variables (Palacios G, 2013). Así Andrès y su grupo comunican que la deficiencia clínica de Vitamina B12 afecta al 20% de los individuos mayores de los países industrializados (Andrès E, 2004), mientras que la prevalencia del deficit subclinico puede alcanzar hasta el 40% (Bjorkegren CJ, 2001; Bates CJ, 2003; Allen LH, 2004; González-Gross M, 2007; Andrès E, 2008).

En nuestro trabajo hemos observado una **prevalencia del déficit de Vitamina B12** en pacientes mayores hospitalizados del 13%, porcentaje que se asemeja a lo descrito en la literatura en general, donde en distintos estudios se recoge que en los pacientes mayores de 60-65 años la prevalencia del déficit de Cobalamina se encuentra entre el 5-15% (Bunting RW, 1990; Hanger HC, 1991; Pennypacker LC, 1992; Joosten E, 1993;

Lindenbaum J, 1994; Stabler SP, 1995; Allain TJ, 1997; Andr  s E, 1998; Baik HW, 1999; Shahar A, 2001; Wahlin A, 2002; Rajan S, 2002; McNeill G, 2002, González-Clemente JM, 2002; Kwan L, 2002; Salles Montaudon N, 2003; Figlin E, 2003; De Jong N, 2003; Saperstein DS, 2003; Rodríguez Fernández S, 2005; Green TJ, 2005; Miller JW, 2006; Hin H, 2006; Loikas S, 2007; Tal S, 2010; Xavier JM, 2010; Albers U, 2012; Mirkazemi C, 2012; Gammon CS, 2012; Calvo Romero JM, 2012). Un número inferior de estudios describe prevalencias inferiores al 5% en pacientes mayores (Bell IR, 1990; Haller J, 1991; Aparicio Vizuite A, 2005; Pérez-Bocanegra C, 2009; Hinds HD, 2011) y por otra parte, otros estudios describen prevalencias mayores del 15%, en pacientes con edad superior a los 60 años, tanto hospitalizados como ambulatorios (Kwok T, 2002; Clarke R, 2003; Clarke R, 2007; Wolters M, 2003; van Oijen MG, 2007; Penninx BW, 2000; Olivares M, 2000; Ramírez Pereda A, 2006), llegando a alcanzarse prevalencias superiores al 40% (Olivares M, 2000; Wolters M, 2003).

La disparidad de los puntos de corte para definir el déficit vitamínico en los diferentes estudios revisados podría explicar en parte las diferencias de prevalencia (**Tablas 37-42**). El punto de corte de 200 pg/mL de Vitamina B12 en plasma es el valor más comúnmente empleado y aceptado por la comunidad científica (Carmel R, 2003; Stabler SP, 2004; Evatt ML, 2010). Hay autores que establecen puntos de corte muy bajos como en el estudio de Joosten (déficit de Vitamina B12 <103 pmol/L) (Joosten E, 1993) y otros como van Oijen que establecen el punto de corte en 250 pmol/L (van Oijen MG, 2007).

Otros aspectos, como las condiciones socioeconómicas    culturales deberían tenerse en cuenta de igual forma para entender esta variabilidad de resultados. Así es comprensible que en algunos estudios realizados en India (Refsum H, 2001; Gulvadi C 2007; Arora S, 2011)    en México (Ramírez Pereda A, 2006) o China (Kwok T, 2002) se registren cifras de prevalencia muy superiores a las obtenidas en países de mayor renta per cápita como EE.UU, Canadá o Australia (McLead ED, 2007; Lee-Guzman C, 2011; McFarlane AJ, 2011; Sukla KK, 2012). Cabe destacar las altas prevalencias de déficit de Vitamina B12 en los estudios realizados en la India, superiores al 40% (Arora S, 2011; Refsum H, 2001; Yajnik CS, 2006; Gulvady C, 2007; Satyanarayan A, 2011; Koshy AS, 2012), que se podrían atribuir al elevado porcentaje de la población que sigue una dieta vegetariana. De todas formas, en otros estudios se constatan cifras muy

superiores a las esperadas a priori lo que podría obedecer a razones médicas como la presencia de atrofia gástrica (Baik HW, 1999; Clarke R, 2007; Johnson MA, 2010; Martínez Marín JD, 2010) o por causas genéticas (Fora MA, 2005). En los **países industrializados**, la prevalencia del déficit de Cobalamina, tiende a ser menor que en los países en vías de desarrollo (Haller J, 1991; Rissanen PM, 1996; García Closas R, 2002; Aparicio Vizuite A, 2005), pero se han llegado a alcanzar prevalencias muy elevadas, del 30 a 40% en el Reino Unido (Clarke R, 2007) o en Alemania (Wolters M, 2003), incluso se han descrito valores tan altos como un 68% en un estudio holandés (van Oijen MG, 2007).

La mayoría de los estudios revisados en **pacientes ambulatorios** comunican prevalencias del déficit de Vitamina B12 en torno al 10-20% (Pennypacker LC, 1992; Yao Y, 1992; Carmel R, 1999; Tucker KL, 2000; Rajan S, 2002; Figlin E, 2003; Hin H, 2006; Loikas S, 2007; Zittan E, 2007; Headstrom PD, 2008; Ng TP, 2009; Gammon CS, 2012; Mirkazemi C, 2012). Algunos objetivan prevalencias inferiores al 10% (Hanger HC, 1991; Weikert C, 2007; Sipponen P, 2003; Saperstein DS, 2003) y otros superiores al 20% (Brolin RE, 1991; Brolin RE, 1998; Olivares M, 2000; Gümürdülü Y, 2003), llegando a alcanzar prevalencias superiores al 40% (Wolters M, 2003; Olivares M, 2000).

En **nuestro país** hay pocos estudios publicados sobre la prevalencia de esta deficiencia vitamínica realizados a nivel **ambulatorio** (García Closas R, 2002, Haller J, 1991; Aranceta J, 1994; Henríquez Sánchez P, 2000; Planells E, 2003). El promedio de prevalencia de déficit de Vitamina B12 observado es del 6,2%, siendo las prevalencias más altas de un 11% en Granada (Planells E, 2003) y un 12% en el País Vasco (Aranceta J, 1994). García Closas et al. objetivó únicamente un 2% de déficit de Vitamina B12 en 378 individuos entre 18 y 75 años (García Closas R, 2002) (**Tabla 38**).

También se han realizado en nuestro país estudios en pacientes **institucionalizados** (Huerta JM, 2004; Aparicio Vizuite A, 2005; González-Gross M, 2007; Albers U, 2012; Vázquez-Pedrazuela MC, 2012) (**Tabla 40**). Huerta y colaboradores estudiaron a 140 individuos ingresados en siete centros sociosanitarios de Asturias. Obtuvieron una prevalencia del 15,7% para un punto de corte de 185 pmol/L en plasma (Huerta JM, 2004). En 2005, García Pinilla et al. estudiaron a casi 200 individuos entre los 38 y los

79 años e igualmente obtuvieron una baja prevalencia (3%) con un punto de corte para el déficit de Vitamina B12 ligeramente superior, 211 pg/mL (García Pinilla JM, 2005). En ese mismo año, Aparicio Vizuite y colaboradores publican los resultados de un estudio llevado a cabo con 178 pacientes geriátricos institucionalizados. Comprobaron una prevalencia del 1,5%, si bien hay que tener en cuenta que el punto de corte utilizado fue bastante inferior, 110 pg/mL (Aparicio Vizuite A, 2005).

Más en consonancia con nuestros resultados, encontramos un estudio de González Gross publicado en el año 2007, en el cual registraron 34 casos de déficit de Vitamina B12 entre 218 pacientes residentes en varios centros geriátricos lo que suponía un 16% si sólo se tenía en cuenta los niveles séricos de Vitamina B12 por debajo de 200 pg/mL (González-Gross M, 2007); sin embargo, si se atendía a los niveles de holotranscobalamina (holoTC) II en plasma iguales o inferiores a 45 pmol/L, este porcentaje aumentaba hasta un 39%.

En 2012, se publicaron dos trabajos más en pacientes mayores institucionalizados y residentes en Valladolid y Madrid, respectivamente. Uno de los trabajos fue realizado por Vázquez Pedrazuela y su grupo. En dicho estudio demostraron que el 16,5% de los sujetos presentaba bajos niveles de Vitamina B12 en plasma (n=99) (Vázquez-Pedrazuela MC, 2012). Por su lado Albers y equipo registraron un déficit de Vitamina B12 del 10,5% entre 167 individuos con una edad media de 81 años institucionalizados en varios centros de la provincia de Madrid, con un punto de corte inferior al habitual (<150 pg/mL). Apuntan entre otras posibilidades causales la edad y la toma de medicamentos como los inhibidores de la bomba de protones para explicarse este alto porcentaje (Albers U, 2012).

Por otro lado, los estudios realizados en el **ámbito hospitalario** (27 estudios de 183 analizados, lo que supone un 13,2% en el periodo comprendido entre los años 1990 y 2012) también resultan escasos según la bibliografía revisada (Bunting RW, 1990; Bell IR, 1990; Joosten E, 1993; Brett AS, 1994; Matchar DB, 1994; Stott DJ, 1997; Andrès E, 1998; Silver H, 2000; Dharmarajan TS, 2000; Chui CH, 2001; Shahar A, 2001; Salles-Montaudon N, 2003; Marengoni A, 2004; Paillaud E, 2004; Iqbal MP, 2005; Dzieniszewski J, 2005; Rodríguez Fernández S, 2005; Viña Rodríguez JJ, 2006; van

Oijen MG, 2007; Wang YH, 2009; Corcoran TB, 2009; Mateos-Polo L, 2009; Pérez-Bocanegra C, 2009; Tal S, 2010; Arora S, 2011; Vega de Céniga M, 2011) (**Tabla 34**).

Interesa destacar, aunque sea anterior al periodo de análisis de nuestro estudio, un trabajo publicado por Blundell en el año 1985 en el cual se determinó la Vitamina B12 en el plasma de 200 pacientes que ingresaron de forma consecutiva y por cualquier motivo en la Unidad de Geriatría del Hospital S. Charles de Londres. En 50 pacientes (23%) se testaron niveles inferiores a 165 ng/L (Blundell EL, 1985).

Por su parte, Bunting et al. en 1990 analizaron la deficiencia de Vitamina B12 en 250 pacientes mayores de 70 años ingresados en un hospital de rehabilitación en Boston. El 6% de los casos presentaron un déficit de Vitamina B12 en plasma (<148 pg/mL) (Bunting RW, 1990).

En ese mismo año, Bell y cols. sobre una muestra de 102 pacientes mayores de 65 años ingresados en un hospital psiquiátrico en Belmont, Massachusetts, sólo encontraron una deficiencia de Cobalamina del 3,7%, considerando un punto de corte de 150 pg/mL. Concluyen que estados de insuficiencia vitamínica de Cobalamina y/o folatos podrían contribuir a acelerar ciertos trastornos geropsiquiátricos que comienzan a una edad posterior y que carecen de una predisposición familiar (Bell IR, 1990).

Joosten y su grupo estudiaron a 449 individuos. Establecieron 3 grupos, un grupo de jóvenes sanos (n=99 con edad media de 30 años), otro de mayores sanos (n=64 con edad media de 76 años) y un último grupo compuesto por 286 mayores hospitalizados procedentes de diferentes unidades geriátricas de hospitalización de Bélgica, Holanda y Alemania. Los pacientes habían ingresado con enfermedades comunes tales como diabetes, demencia, enfermedad vascular, osteoporosis u osteartrosis. En el grupo de mayores sanos la prevalencia del déficit fue del 6%, mientras que en el grupo de pacientes mayores enfermos (n=286) fue de un 5%, siendo el punto de corte definitorio de déficit de Cobalamina de 103 pmol/L (Joosten E, 1993).

En 1994, Brett y colaboradores también en Massachusetts y sobre una muestra de 162 pacientes psiquiátricos que ingresaron de forma consecutiva en su Unidad determinaron

los niveles plasmáticos de Vitamina B12 y certificaron 10 casos con niveles de Cbl inferiores a 200 pg/mL, lo que suponía un 6% (Brett AS, 1994).

Matchar y cols. detectaron un 5% de deficiencia de Vitamina B12 sobre una muestra de más de 1.500 pacientes ingresados en un Centro médico de veteranos de Carolina del Norte. Se tomó como punto de corte 180 pg/mL. Los investigadores para detectar correctamente los pacientes con deficiencia de Vitamina B12 realizaron estudios analíticos complementarios como la determinación del ácido metilmalónico urinario y una cuidadosa exploración física para descubrir manifestaciones asociadas a este déficit (Matchar DB, 1994).

En 1997, se publica otro interesante trabajo realizado en el Reino Unido en 474 pacientes ingresados con edades comprendidas entre los 63 y 101 años, encontrándose un déficit de Cobalamina del 15%. En esta ocasión el punto de corte empleado fue de 175 pmol/L (Stott DJ, 1997).

Dharmarajan et al. estudiaron a 466 pacientes mayores de 75 años. Al ingreso se estableció que 28 pacientes (6%) presentaban en ese momento niveles de Vitamina B12 en plasma por debajo de 200 pg/mL y casi el 2% tenía unos niveles marginales de Cobalamina en plasma, entendiéndose como tal niveles entre 200 y 350 pg/mL (Dharmarajan TS, 2000). En otros estudios se reportan también porcentajes similares e incluso más elevados. Así p.e Pennypacker constató que la mitad de los individuos presentaban unos valores entre 200 y 300 pg/mL (Pennypacker LC, 1992). En nuestra serie casi el 15% de los pacientes presentaba estos niveles marginales.

En 2001, Chui et. al. hicieron públicos los datos de su estudio sobre 3.741 pacientes reclutados cinco años antes. El 6% de los mayores de 70 años presentaba niveles séricos bajos de Vitamina B12 (<140 pg/mL), mientras que en los menores de 70 años se reducía al 4,5% (Chui CH, 2001). Shahr y su grupo, en una muestra de 640 pacientes mayores de 65 años ingresados en un hospital de Israel certificaron que un 15% de los sujetos presentaba niveles bajos de Cbl (<150 pmol/L). A destacar que la enfermedad cerebrovascular fue significativamente más frecuente entre los pacientes con niveles más bajos de Vitamina B12 (Shahr A, 2001).

Un estudio suizo realizado en 2003 a 196 pacientes consecutivos con indicación de realización de endoscopia gástrica reveló una prevalencia de déficit de Vitamina B12 muy similar a la obtenida en nuestro estudio (13,3%) (Salles-Montaudon N, 2003).

Marengoni y su grupo estudiaron 212 pacientes que ingresaron durante un año y medio en una Unidad geriátrica de agudos del Hospital Civil de Brescia, en el norte de Italia. Constataron que el 24% de los pacientes presentaba un déficit de Vitamina B12 ó ácido fólico (Marengoni A, 2003). Paillaud en Francia en una serie de 94 pacientes con edad media de 82 años encontró una prevalencia del 7% (Vitamina B12 <200 ng/L) (Paillaud E, 2004).

Dzieniszewski en una muestra de 206 pacientes ingresados objetivó un 7% de deficiencia de Vitamina B12 considerando como punto de corte 150 pg/mL (Dzieniszewski J, 2005).

Un estudio similar al nuestro, realizado en pacientes ingresados en un Servicio de Medicina Interna de un hospital terciario de Francia solamente encontró una prevalencia del 5% en estos grupos de edad con un mismo punto de corte para definir el déficit de Vitamina B12 (Andrès E, 2008).

De forma llamativa sobre el resto de trabajos revisados realizados en el ámbito hospitalario, el estudio de Iqbal et al. (Iqbal MP, 2005) comunica un 63,5% de deficiencia de Vitamina B12, si bien este porcentaje se constataba entre pacientes que estaban ingresados a causa de un infarto agudo de miocardio (**Tabla 40**). Por su parte van Oijen y Arora objetivan cifras de prevalencia muy elevadas (33 y 43%, respectivamente) (van Oijen MG, 2007; Arora S, 2011). Es de reseñar que tanto en el estudio de van Oijen como en el de Iqbal los pacientes eran cardiópatas.

Viña Rodríguez y su grupo, también en Canarias, establecieron en una muestra de 337 pacientes mayores de 65 años ingresados en un Servicio de Medicina Interna una prevalencia del déficit del 9%, usando el límite de 200 pg/mL (Viña Rodríguez JJ, 2006). En otros 4 estudios españoles las prevalencias variaron entre el 4,1 y el 15,7% (Vega de Céniga M, 2011) sin especificarse en los otros tres estudios el punto de corte

utilizado para definir el déficit vitamínico (Rodríguez Fernández S, 2005; Mateos-Polo L, 2009; Pérez-Bocanegra C, 2009).

En 2009, un estudio chino realizado sobre más de 800 pacientes mayores de 60 años ingresados en un Servicio de hospitalización de Neurología mostró que presentaban un déficit de Cobalamina de casi el 20%. Entendiéndose como déficit de Cobalamina concentraciones de Vitamina B12 inferiores a 189 pg/mL y cifras de Hcy en plasma superiores a 15 μ mol/L (Wang YH, 2009).

Por su parte Tal et al. registran de forma retrospectiva en una serie de 1.570 pacientes mayores de 65 años ingresados en dos Centros hospitalarios de Israel un porcentaje muy similar al encontrado en nuestra población de estudio (15% de déficit con un punto de corte de 200 pmol/L) (Tal S, 2010).

Por último encontramos en una cohorte de 129 pacientes ingresados en una Unidad de Medicina Intensiva una prevalencia del déficit de Cobalamina del 6,2%. Esta deficiencia se observó al ingreso en dicha unidad y el punto de corte empleado fue de 160 pmol/L (Corcoran TB, 2009).

En resumen, en nuestro estudio hemos observado una prevalencia del déficit de Vitamina B12 del 13% en pacientes mayores hospitalizados, concordante con lo descrito en la literatura para población mayor en general. Esta prevalencia es superior a la descrita en varios estudios realizados en pacientes hospitalizados en los que se describe una prevalencia en torno a un 5-7% (Bunting RW, 1990; Joosten E, 1993; Brett AS, 1994; Matchar DB, 1994; Andrès E, 1998; Dharmarajan TS, 2000; Chui CH, 2001; Pillaud E, 2004; Dzieniszewski J, 2005; Corcoran TB, 2009), habiendo utilizado en algunos de ellos puntos de corte más bajos para definir el déficit vitamínico como p.e en el estudio de Joosten (Joosten E, 1993). Sin embargo, nuestros resultados se aproximan bastante a la prevalencia entre un 13 y 15% descrita por otros autores (Stott DJ, 1997; Shahr A, 2001; Salles-Montaudon N, 2003; Rodríguez Fernández S, 2005; Tal S, 2010; Vega de Céniga M, 2011), siendo inferior a prevalencias en torno al 20% comunicada en otros estudios (Silver H, 2000; Wang YH, 2009;). Si se considera el promedio de la prevalencia de déficit de Vitamina B12 de los estudios realizados en pacientes hospitalizados se obtiene un 10% excluyendo los trabajos de Iqbal, van Oijen y Arora et

al. (Iqbal MP, 2005; van Oijen MG, 2007; Arora S, 2011) que mostraron unos valores excepcionalmente elevados, estando realizados 2 de ellos en pacientes con infarto o en una unidad de Coronarias (Iqbal MP, 2005; van Oijen MG, 2007) y el otro en un país con características muy distintas al nuestro como es la India (Arora S 2011).

1.1 Déficit de Vitamina B12 y relación con la edad

Un aspecto bien conocido y recogido en la bibliografía revisada es que la prevalencia del déficit de Vitamina B12 aumenta de forma notable con la edad (Nilsson-Ehle H, 1991; Wahlin A, 2002; Campbell AK, 2003; Clarke R, 2004; Obeid R, 2004; Clarke R, 2007; Loikas S, 2007). Ya en 1991, Nilsson-Ehle et al. demostraron en un estudio longitudinal de 973 pacientes de edades comprendidas entre los 70 y 81 años se producía un descenso anual de 3,4 pmol/L en los varones y de 3,2 pmol/L en las mujeres, en estas últimas sin alcanzarse la significación estadística (Nilsson-Ehle H, 1991). Posteriormente, otros grupos han corroborado esta misma circunstancia (Allen LH, 2009; Johnson MA, 2010; Evatt ML, 2010; Lee-Guzman C, 2011).

Johnson MA. et al. demostraron que la prevalencia del déficit de Vitamina B12 era significativamente mayor en los individuos centenarios que en los octogenarios (35,3% vs 22,8%) (Johnson MA, 2010). En base a los estudios del NHANES 1999-2002, Allen LH. et al. constataron que la frecuencia del déficit en el grupo de 20 a 39 años era inferior al 3%, mientras que en los mayores de 70 años el porcentaje era superior al 6% (Allen LH, 2009). Lee-Guzman y su grupo estudiaron una muestra muy amplia y heterogénea de la ciudad de Turlock, California (n=4.269). Se obtuvieron datos de tres Centros de Atención Primaria representativos de la ciudad con perfiles de individuos muy diversos (n1=1.556, n2=1.525 y n3=1.188). Se observó que el mayor porcentaje de déficits de Vitamina B12 se situó en el grupo de individuos mayores de 80 años (24%, 12,5% y 2,70% frente al 13%, 1,53% y 0,90% del grupo de individuos de 21 a 40 años) (Lee-Guzman C, 2011). Esta relación entre déficit vitamínico y mayor edad también se evidencia en nuestro estudio, de tal forma que la edad media de los pacientes con déficit de Vitamina B12 fue significativamente superior a la de los pacientes sin déficit de (81 vs 77 años) y casi la mitad de los pacientes que presentaron déficit de Cobalamina en plasma pertenecían al grupo etario de 81 a 90 años (19/46), mientras que sólo 3 pacientes estaban en la franja de 60 a 70 años. Estos hallazgos concuerdan con los datos

previamente publicados en otros estudios (Chui CH, 2001; Wahlin A, 2002; Clarke R, 2004; Obeid R, 2004; Clarke R, 2007; Loikas S, 2007; Allen LH, 2009; Johnson MA, 2010; Lee-Guzman C, 2011).

En algunos casos la asociación entre déficit de Vitamina B12 y mayor edad ha sido más débil. Thuesen y su grupo en una muestra de más de 6.000 individuos daneses con edades comprendidas entre los 30 y los 60 años encuentran inicialmente una asociación inversamente significativa entre los niveles de Vitamina B12 y el aumento de edad. Sin embargo, esta asociación desaparece cuando se incluye el folato en el modelo estadístico (Thuesen BH, 2010). Un reciente estudio australiano realizado en 259 pacientes institucionalizados en un centro sociosanitario evidenció una correlación negativa débil pero significativa entre la edad y los niveles de Vitamina B12 (Mirkazemi C, 2012). Wang y su grupo apreciaban una tendencia al aumento del déficit de Vitamina B12 en relación a la edad (Wang YH, 2009). Por otra parte, algunos estudios no han podido demostrar variaciones de los niveles de Cbl con el aumento de la edad (Brattström L, 1994; Shahar A, 2001). Brattström y su grupo estudiaron en una muestra de 500 individuos suecos (30-95 años) varios biomarcadores que influían en los niveles de homocisteína total plasmática. Entre ellos, analizaron los niveles de Vitamina B12 sin encontrar asociación significativa con la edad (Brattström L, 1994). Por su parte tanto Shahar et al. como Chiche et al. tampoco observaron asociación entre los niveles bajos de Vitamina B12 y la edad (Shahar A, 2001; Chiche L, 2013).

En definitiva, hemos observado una asociación significativa entre el aumento de la edad y mayor prevalencia de déficit de Vitamina B12. Numerosos estudios apoyan esta asociación, describiendo un descenso de los niveles de Vitamina B12 con la edad, aunque no existe total unanimidad de este hallazgo en la literatura.

1.2 Déficit de Vitamina B12 y relación con el género

En muchos de los trabajos revisados el déficit de Vitamina B12 se asoció con el **sexo masculino**. En la mayoría esta relación resultó estadísticamente significativa (Selhub J, 1993; Carmel R, 1997; Wright JD, 1998; Baik HW, 1999; Ray JG, 2000; Olivares M, 2000; Figlin E, 2003; Flicker LA, 2004; Stabler SP, 2004; Fora MA, 2005; Chen KJ,

2005; Loikas S, 2007; Hao L, 2007; Sánchez H, 2010; Hinds HE, 2011), mientras que en otros no se alcanzó la significación estadística (Quinn K, 1996; Fakhrzadeh H, 2006; Wang YH, 2009; Johnson MA, 2010; Vázquez-Pedrazuela MC, 2012). Sin embargo, en nuestro estudio, la deficiencia de Cobalamina tendía de forma casi significativa a ser más prevalente entre las mujeres. Sin embargo, al ajustar por la edad desaparecía esta asociación, de forma que podemos explicar esa tendencia inicial a mostrar mayor prevalencia de déficit de Vitamina B12 en las mujeres a su mayor edad.

Por otra parte, algunos otros estudios han constatado una asociación estadísticamente significativa entre el déficit de Vitamina B12 y el **sexo femenino** (Gamble MV, 2005; Jonhson MA, 2010; Thuesen BH, 2010; Koshy AS, 2012; Mahalle N, 2013). Sin embargo, en nuestro estudio no hemos observado asociación entre el déficit de Vitamina B12 y el género. De hecho, algunos autores señalan que en contraposición a la importancia de la edad, otras características demográficas como el sexo, raza o etnias no son tan importantes para predecir la deficiencia de Cobalamina y los estudios en este sentido muestran resultados dispares concluyendo que las diferencias de sexo no son lo suficientemente importantes como para establecer una relación estadísticamente significativa entre ambas variables (de Carvalho MJ, 1996; Wahlin A, 2002; Evatt ML, 2010).

1.3 Déficit combinado de Vitamina B12 y ácido fólico

Aunque clásicamente se ha descrito que el déficit combinado de Vitamina B12 y ácido fólico es frecuente (Lindenbaum J, 1994; McLead E, 2008; Vázquez-Pedrazuela MC, 2012), en nuestro trabajo la prevalencia resultó ser muy baja (1%). Además observamos una asociación inversa significativa entre los valores plasmáticos de Vitamina B12 y las cifras de ácido fólico, sin poder establecer una causa que justifique este resultado.

Por otra parte la prevalencia del déficit aislado de ácido fólico resultó bajo en comparación con el déficit de Vitamina B12 (3% frente al 13,6%). Otros estudios han comunicado resultados similares a los nuestros (Haller J, 1991; Campbell AK, 2003; O'Leary F, 2011; McFarlene AJ, 2011).

Así p.e en el estudio EURONUT-SENECA sólo el 2,7% de la muestra presentó una deficiencia de Vitamina B12, mientras que no se encontró ningún caso de deficiencia de folato (Haller J, 1991); Campbell y su grupo observaron una déficit aislado de folato del 0,4% (Campbell AK, 2003) y en la encuesta nacional de salud canadiense (2007-2009), realizada en más de 5.600 sujetos, el déficit de folato intraeritrocitario fue prácticamente inexistente atribuyendo estos resultados a la fortificación obligatoria de la harina con ácido fólico (McFarlane AJ, 2011).

Sin embargo otros trabajos realizados en nuestro país revelan resultados inversos a los descritos previamente (Planells E, 2003; Albers U, 2012). Planells en una muestra de 384 individuos adultos comunicaron una prevalencia de niveles bajos de folato del 12,8 frente al 8,6% de casos de deficiencia de Cobalamina (Planells E, 2003); Albers y su grupo comunican una alta prevalencia de déficit de folato sérico en una serie de 167 sujetos institucionalizados en la Comunidad de Madrid (52,1% frente al déficit de Vitamina B12, 10,7%) (Albers U, 2012). Destacar un estudio realizado en nuestra comunidad autónoma, (Viña Rodríguez JJ, 2006) que también observa mayor prevalencia de déficit de folato (12,6%) que de Vitamina B12 (8,9%).

En Austria, Fabian y su grupo observan igualmente en 102 sujetos entre 70 y 90 años una prevalencia del déficit de folato del 10% frente a un 5% de deficiencia de Vitamina B12, si bien es cierto que un alto porcentaje de los individuos presentan cifras marginales de folato y Vitamina B12, 35% y 28%, respectivamente. Se mencionan como posibles causas para explicar estos hallazgos la suplementación inadecuada, los cambios fisiológicos relacionados con la edad concernientes a la digestión, absorción y metabolismo y las interacciones con los fármacos (Fabian E, 2012).

Estudios internacionales obtienen resultados similares (Charlton KE, 1997; Shahar A, 2001). Charlton y su grupo revelan una deficiencia de folato del 16,3% (n=184) (Charlton KE, 1997) y Shahar y su grupo en una muestra de 640 individuos mayores de 65 años hospitalizados comunican una prevalencia del 27,3% (Shahar A, 2001). Justifican estos resultados a deficiencias dietarias.

2. DIAGNÓSTICO DEL DÉFICIT DE VITAMINA B12

En nuestro trabajo hemos empleado los niveles plasmáticos de Vitamina B12 como test fundamental para el diagnóstico del déficit vitamínico, siguiendo una de las definiciones propuestas por Emmanuel Andrès en 2004 para personas de edad avanzada, el obtener dos determinaciones séricas <200 pg/mL medidas en días distintos (Andrès E, 2004). Se consideró como punto de corte el límite de 200 pg/mL siguiendo las recomendaciones de la OMS (Walker PF, 2011) y por ser el valor más consensuado por la comunidad científica (Allen LH, 2004; Gielchinsky Y, 2001; Golland S, 2003; Walker PF, 2011; Bosco C, 2012; Evatt ML, 2010; Langan RC, 2011). Además la medición del valor del nivel plasmático de Vitamina B12 es la prueba analítica más utilizada en nuestro medio y a nivel mundial para detectar el déficit de esta vitamina (Klee GG, 2000; Carmel R, 2003; Solomon LR, 2007; Clarke R, 2007; Koshy AS, 2012; Brito A, 2012; Andrès E, 2012; Stabler SP, 2013). Su determinación es económica y se solicita con frecuencia en los pacientes durante el ingreso hospitalario en nuestro Servicio.

No obstante, a día de hoy el diagnóstico de déficit de Vitamina B12 sigue siendo un tema muy controvertido y no existe unanimidad sobre los criterios diagnósticos definitorios (Snow CF, 1999; Aguirre Errasti C, 2002; Green R, 2005; Hvas AM, 2006; Solomon LR, 2007; Langan RC, 2011; Evatt ML, 2010; Hughes CF, 2013; Berg RL, 2013).

Dado que el déficit tisular de Vitamina B12 puede reflejarse mejor por la elevación de homocisteína (Hcy) y ácido metilmalónico (AMM) (Pennypacker LC, 1992, Savage DG, 1994; Lindenbaum J, 1994; Klee GG, 2000; Chatthanawaree W, 2011) algunos autores defienden que deberían incluirse dos biomarcadores, uno de los niveles circulantes de Vitamina B12 (niveles séricos de Vitamina B12) y un indicador metabólico del déficit, preferiblemente el ácido metilmalónico (AMM) (Savage DG, 1994; Errasti C, 2002; Yetley EA, 2011; Carmel R, 2011).

Sin embargo, los niveles de AMM pueden estar falsamente elevado en los casos de deterioro de la función renal (Schneede J, 2005), circunstancia frecuente en los pacientes añosos. También se ha descrito la elevación de la Homocisteína plasmática con la edad (Albers U, 2012). Dada la posibilidad de falsos positivos y el tratarse,

especialmente la determinación de AMM, de una prueba cara y no disponible en muchos centros (Ray JG, 2005; Langan RC, 2011; Willis CD, 2011; Chatthanawaree W, 2011), estas determinaciones no han sido completamente validadas como examen clínico de rutina de la deficiencia de Cobalamina. Además los puntos de corte de ambos metabolitos, para definir un posible déficit de Vitamina B12 aún no están bien definidos (Valente E, 2011).

Aunque inicialmente nos habíamos propuesto la determinación de homocisteína (Hcy) y AMM en los pacientes que presentasen cifras bajas de Vitamina B12 y en los casos con cifras borderline, no se consiguió llevar a cabo en todos ellos. En los casos en los que si se determinó, se observó una asociación inversa significativa entre los valores de Vitamina B12 y los niveles de ácido metilmalónico en plasma, al igual que lo observado en otros trabajos de la bibliografía revisada (Vogiatzoglou A, 2009; Miller JV, 2009; Bailey RL, 2011; Shobha V, 2011; Vázquez-Pedrazuela MC, 2012). De igual forma, en los casos en que los que se determinaron los niveles de homocisteína en plasma, también se observó una correlación inversa entre los niveles plasmáticos basales de homocisteína y los de Vitamina B12, en consonancia con otras publicaciones (Ganji V, 2003; García Pinilla JM, 2005; Henríquez P, 2007; Vogiatzoglou A, 2009). En nuestro estudio, el 55,4% y casi el 80% de los pacientes en que se realizaron estas determinaciones obtuvieron valores elevados de AMM y Hcy, respectivamente. En algunos de estos pacientes la determinación de estos biomarcadores se realizó tras instaurarse tratamiento sustitutivo con Vitamina B12, por lo que asumimos que en algunos casos los valores normales de AMM y Hcy en plasma son el resultado del tratamiento sustitutivo instaurado.

Por otro lado, está bien documentado en la bibliografía que niveles normales o elevados de Vitamina B12 no excluyen un déficit funcional de la misma (Andrés E, 2011).

Otro aspecto es la **hipervitaminosis**, que no es un hallazgo infrecuente en la práctica clínica (Andrés E, 2011; Cosma Rochat M, 2012; Arendt JF, 2012). En nuestra serie la hipervitaminosis suponía más del 15% de los casos. No hay que olvidar que los niveles elevados de Cbl en plasma se asocian a procesos infecciosos, a neoplasias sólidas o hematológicas o insuficiencia renal aguda o crónica agudizada (Andrés E, 2011; Cosma Rochat M, 2012; Arendt JFB, 2012), que suponen motivos frecuentes de ingreso en

nuestro Servicio. Así, por ejemplo los pacientes incluidos en el estudio y que ingresaron por un proceso infeccioso agudo supusieron el 38,8% de los casos y fueron excluidos todos los pacientes que presentaran niveles de creatinina plasmática por encima de 2 mg/dL. Por todo ello, consideramos que podríamos estar ante una subestimación del déficit de Vitamina B12 en nuestro medio y que la prevalencia real en los pacientes hospitalizados pudiera ser mayor.

Por otra parte, varios estudios han constatado que la holotranscobalamina (holoTC) es un marcador más específico y precoz del déficit de Vitamina B12 (Hvas AM, 2005; Miller JV, 2006; Clarke R, 2007; Chatthanawaree W, 2011). Es conocida la importancia de la detección precoz del déficit de Cobalamina, por ello Herrmann y su grupo proponían como primera herramienta de screening para el diagnóstico de déficit de Vitamina B12 la determinación de holoTC en plasma (Herrmann W, 2008). Sin embargo, en un estudio realizado en 700 pacientes mayores de 60 años la determinación de holoTC mostró una sensibilidad muy similar a la determinación de Cobalamina intraeritrocitaria y plasmática (8%, 8,1% y 9,6% respectivamente) (Valente E, 2011).

De hecho, actualmente no existe un consenso en relación a que la holoTC deba sustituir a las pruebas convencionales como la determinación de niveles séricos de Vitamina B12 (Yetley EA, 2011; Nexo E, 2011; Berg RL, 2013).

3. APROXIMACIÓN ETIOLÓGICA DEL DÉFICIT DE VITAMINA B12

Varios trabajos publicados en los últimos años han constatado que la causa más frecuente de deficiencia de la Vitamina B12 es el síndrome de malabsorción alimentaria (SMA) (Carmel R, 2000; Andrès E, 2003; Andrès E, 2005; Dali-Youcef N, 2009). En la segunda parte de nuestro estudio, hemos identificado 62 casos (52,1%) que cumplen los criterios de SMA, salvo el de normalidad del test de Schilling, prueba que no se realiza en nuestro centro y que también está en desuso a nivel mundial (Carmel R, 2007; Cattán D, 2011; Nafil H, 2012). La condición más frecuentemente asociada a este síndrome fue la gastritis atrófica. Andrès y su grupo por su parte comunican resultados muy similares a los nuestros. En su serie, el 53% de los pacientes que presentaban un déficit de Vitamina B12 tenían un SMA (Andrès E, 2005).

Según la bibliografía revisada, la gastritis atrófica constituye la condición más frecuentemente asociada al SMA (Andrès E, 2003; Andrès E, 2005; Dali-Youcef N, 2009). Se cree que la elevada prevalencia del déficit de Vitamina B12 en la población de edad avanzada se debe a la presencia de gastritis atrófica (Campbell AK, 2003; Andrès E, 2004; Braillard O, 2012; Andrès E, 2012). La prevalencia de la atrofia gástrica aumenta con la edad y según varios autores más del 40% de los pacientes con edad superior a 80 años presentan atrofia gástrica (Pautas E, 1999; Carmel R, 2001). En nuestro caso detectamos 24 pacientes con atrofia gástrica no autoinmune, siendo la edad media en este grupo de 76,5 años. Desafortunadamente, debido en gran medida al perfil de nuestros pacientes, mayores, frágiles, con una edad media de 77,4 años, pluripatológicos y con procesos agudos intercurrentes (infecciones agudas que condicionaron más del 30% de los motivos de ingreso), no fue posible realizar estudio endoscópico en todos los casos, por lo que no hemos podido establecer una prevalencia cierta sobre la presencia de gastritis atrófica. Aún así la prevalencia de atrofia gástrica que obtuvimos fue del 31%, considerando los casos de atrofia gástrica no autoinmune documentada (24) y los pacientes con anemia perniciosa (13) en los que podemos asumir la presencia de atrofia gástrica aunque no esté documentada por biopsia, porcentaje muy similar a lo observado en otros estudios como el de Andrés y su grupo realizado en ámbito hospitalario, los cuales obtuvieron una prevalencia del 30% (Andrès E, 2005). No obstante, existen pocos estudios sobre la prevalencia de la gastritis atrófica en pacientes ingresados (Campbell AK, 2003).

Cabe destacar el hallazgo de displasia en 5 pacientes de los 16 a los que se realizó biopsia gástrica. El número de pacientes estudiados es escaso para extraer conclusiones, pero no observamos relación entre la presencia de atrofia gástrica con los niveles de Vitamina B12, hemoglobina, volumen corpuscular medio o edad.

Se detectó la presencia de anticuerpos anti células parietales y/o anti factor intrínseco en 29 de los 72 pacientes en que se realizó dicha determinación, es decir, en un 40% de los pacientes estudiados, valor relativamente elevado, que pone de manifiesto la elevada prevalencia de gastritis autoinmune, que, como se indicó anteriormente no fue completamente estudiada por las características de los pacientes. Realmente esta patología podría estar infradiagnosticada en nuestro trabajo, ya que el estudio

autoinmune no se efectuó en un 39% de los pacientes, lo que supone otra limitación importante de nuestro estudio.

Por otra parte, es bien conocido que la infección por *Helicobacter pylori* (HP) constituye un agente causal de primer orden en el desarrollo de la gastritis atrófica (Ebule IA, 2013). En nuestro estudio la coexistencia de gastritis atrófica y presencia de HP resultó ser baja por los motivos expuestos previamente.

Varios estudios han demostrado el papel de la infección por *H. Pylori* en el desarrollo de la carencia de la Vitamina B12 (Kaptan K, 2000; Sarari AS, 2008; Nafil H, 2012). La infección por HP produce entre otras complicaciones una gastritis aguda y ulcus péptico, lo cual se ha relacionado con una destrucción de las células parietales, pudiendo producir ulteriormente una malabsorción de la Vitamina B12 (Sarari AS, 2008). No obstante, la deficiencia de Vitamina B12 también se ha demostrado en ausencia de atrofia de la mucosa gástrica (Gümürdülü Y, 2003).

En nuestro estudio la serología de *H. Pylori* resultó positiva en el 42,2% de los casos. Esta alta prevalencia de infección pudiera estar en relación con la edad media de nuestra cohorte. Los individuos de edad avanzada tienen un mayor riesgo de infección por HP (Neri MC, 1996; van Oijen MG, 2004; Leja M, 2012). Otros estudios realizados en ámbito hospitalario obtuvieron resultados similares (47-51%) (Biagi P, 2000; Salles-Montaudon N, 2002; van Oijen MG, 2004; van Oijen MG, 2007). Por su parte, Neri constató una prevalencia de infección por HP del 72,9% en una serie de pacientes ingresados y un 68,7% en un grupo de pacientes mayores institucionalizados (Neri MC, 1996). Nafil en un estudio realizado en Marruecos, en una cohorte de pacientes con anemia por déficit de Vitamina B12 encontró un 72,7% de casos infectados por HP (Nafil H, 2012).

Contrariamente a lo esperado, los pacientes de nuestra serie con infección por HP mostraron unos valores de Vitamina B12 en plasma significativamente superiores respecto a los pacientes que no presentaban la infección. Otros autores han demostrado una asociación entre la infección por HP y niveles más bajos de Vitamina B12 en plasma (Tamura A, 2002; Gümürdülü Y, 2003; Sarari AS, 2008).

Así p.e Tamura y su grupo observaron en un grupo de pacientes sometidos a coronariografía, que aquellos que tenían infección por *H. Pylori* presentaron niveles significativamente más bajos de Vitamina B12 y ácido fólico que los pacientes sin infección (Tamura A, 2002). Cabe destacar un estudio turco en el que 78% de los pacientes con dispepsia presentó una infección por HP. El déficit de Vitamina B12 (< 200 pg/mL) fue muy frecuente (47%) y los niveles plasmáticos de Vitamina B12 resultaron significativamente menores en los pacientes con infección por *H. Pylori* (Gümürdülü Y, 2003). En otra serie de 60 casos los niveles de Vitamina B12 fueron deficientes en casi el 70% de los pacientes con infección por *H. Pylori* demostrada por endoscopia (Sarari AS, 2008). En este grupo los niveles de Vitamina B12 fueron significativamente inferiores.

Sin embargo, en un estudio guatemalteco no se observaron diferencias en los niveles de Vitamina B12 en relación a la presencia o no de infección por HP (Rogers LM, 2003). Igualmente, en un estudio de 132 pacientes ambulatorios con dispepsia tampoco se observaron diferencias en los niveles de Vitamina B12 plasmática en función de la presencia o no de *H. Pylori* (Rasool S, 2012).

Una posible explicación de los hallazgos encontrados en nuestra serie se podría relacionar con el hecho de que se trata de pacientes ingresados por procesos agudos que en ocasiones se asocian a elevaciones de los niveles plasmáticos de Vitamina B12.

En nuestro estudio, tampoco se observó diferencia en los niveles de hemoglobina en función de la presencia o no de esta infección. De igual forma, Gümürdülü y su grupo no encontraron diferencias en las cifras de hemoglobina (Gümürdülü Y, 2003). Tampoco se observó diferencia en la prevalencia de ferropenia en función de la presencia de esta infección a pesar de que se ha descrito su asociación con la presencia de anemia ferropénica de causa no filiada (Yuan W, 2010).

En relación al **consumo de fármacos** como factor etiológico del déficit de B12, los antagonistas de los receptores de histamina tipo 2 (anti H2) y los inhibidores de la bomba de protones (IBP) son los medicamentos más prescritos actualmente en el mundo y aunque se conciben inicialmente como terapia a corto plazo en pacientes con úlcera péptica y enfermedad por reflujo gastroesofágico (RGE), este concepto puede

variar como p.e en pacientes que consumen de forma habitual antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) (Ryder SD, 1994; Drug Topics, 2001; Blankenhorn K, 2002; Valuck RJ, 2004; Cotter PE, 2011). Así entre el 30 y el 35% de los pacientes de estudiados consumían IBP ó antigregantes antes de su ingreso.

En nuestro estudio no se encontró asociación entre el consumo de estos fármacos y el déficit de Vitamina B12, a pesar de que diferentes trabajos han demostrado que el uso de fármacos que reducen la secreción ácida conlleva la disminución de la acción de la pepsina con ulterior malabsorción de la Cobalamina unida a la proteína de los alimentos y el déficit subsecuente de la misma (Steinberg WM, 1980; Streeter AM, 1982; Salom IL, 1982; Hamborg B, 1985; Marcuard SP, 1994; Ryder SD, 1994; Blankenhorn K, 2002). El bajo número de casos de nuestro trabajo podría justificar en parte esta falta de asociación.

Sin embargo, algunos estudios tampoco han demostrado, al igual que nosotros, asociación entre estos fármacos y el déficit de Vitamina B12 (Campbell AK, 2003; Tal S, 2010), a menos que se trate de pacientes ancianos en los que ya existe previamente atrofia gástrica (Thomson AB, 2010). Este resultado se explica a partir del hecho que estos fármacos reducen la secreción gástrica pero no completamente como para inhibir la absorción de la Vitamina B12 unida a la proteína de los alimentos (Steinberg WM, 1980; Streeter AM, 1982).

Otros estudios sugieren que este efecto puede ser dosis dependiente y estar asociado igualmente al tiempo de consumo del fármaco (Steinberg WM, 1980; Salom IL, 1982; Marcuard SP, 1994; Schenk BE, 1996; Valuck RJ, 2004) condiciones que en nuestro estudio no fueron evaluadas. Incluso, para algunos autores esta asociación es aún controvertida (Howden CW, 2000).

El uso de metformina también se ha relacionado con la deficiencia de Vitamina B12, aunque el mecanismo aún es controvertido. Se han planteado distintos mecanismos como una inhibición competitiva o inactivación de la absorción de la Cianocobalamina, alteraciones en el factor intrínseco, flora bacteriana intestinal, motilidad intestinal, alteraciones en la estructura a nivel ileal e interacciones con el receptor endocítico de la cubilina (Adams JF, 1983; Bauman WA, 2000; Wile DJ, 2010; Mazokopakis EE, 2012).

Otros estudios añaden que la metformina inhibe la actividad de la membrana calcio dependiente a nivel ileal e incluso alteraciones en el complejo factor intrínseco-Vitamina B12, aunque este último hecho parece ser reversible con la suplementación con calcio (Bauman WA, 2000).

En nuestro estudio no encontramos asociación entre el consumo de metformina y el déficit de Vitamina B12, lo que no coincide con lo comunicado por otros autores (Ting RZ, 2006; Pflipsen MC, 2009; American Diabetes Association, 2010; Nervo M, 2011; Liu KW, 2012; Obeid R, 2013) en los que sí se demuestra esta asociación. Nuestro resultado pudiera explicarse por el bajo número de pacientes diabéticos en tratamiento con metformina y el hecho de que la deficiencia de Vitamina B12 asociada a la toma de biguanidas se presenta entre un 6-30% de los pacientes diabéticos, en función de la dosis y duración del tratamiento (Dali-Youcef N, 2009; Ouvarovskaia V, 2013); algunos autores incluso consideran que se requiere un consumo mantenido durante al menos 10-12 años (Sahim M, 2007; de Jager J, 2010) aunque los niveles pueden comenzar a disminuir hasta un 14% a los 16 semanas de iniciado el tratamiento (Wulffele MG, 2003). Otros estudios revisados, no encuentran asociación con la dosis, pero sí con la duración del tratamiento (Campbell AK, 2003; Ting RZ, 2006; Pflipsen MC, 2009; Nervo M, 2011). En nuestro estudio solamente estudiamos el consumo o no del fármaco y no se recogió la dosis, ni tampoco el tiempo de consumo.

Aunque se trata de una asociación descrita hace tiempo, se han encontrado pocos estudios (Karabiber H, 2003; Aslan K, 2007; Mintzer S, 2012) con respecto a la relación entre el uso de anticonvulsivos y el déficit de Vitamina B12. Para algunos autores los niveles bajos de Vitamina B12 de plasma podrían explicarse en el contexto del potencial incremento de los niveles de homocisteína sérica (Karabiber H, 2003). En nuestro estudio el número de pacientes en tratamiento con anticonvulsivos resultó ser muy bajo, por lo que no se encontró asociación estadística. Incluso, hay autores que han descrito un aumento de los niveles de Vitamina B12 (Dastur DK, 1987; May RB, 1993; Tamura T, 2000).

Los antiinflamatorios se han relacionado en algunos estudios con alteraciones en la absorción de Vitamina B12 partiendo del hecho de que estos fármacos pueden producir úlcera péptica, sangrado gástrico, disminución de la secreción de factor intrínseco e

hipoclorhidria (Willems FF, 2002; van Oijen MG, 2004). Sin embargo, a pesar de que estos fármacos eran consumidos por algunos de los pacientes estudiados, dicha asociación no pudo ser demostrada, quizás por el reducido número de pacientes que se encontraban en esta situación.

Se observó una asociación significativa entre el déficit de Vitamina B12 y la ausencia de consumo de IECAs. No hemos encontrado otras referencias en la bibliografía que apunten, apoyen o expliquen esta asociación. Curiosamente, la Clínica Mayo en su portal web recomienda el uso cauteloso de los IECAs dada la posibilidad de disminuir los niveles séricos de Cbl (Disponible en: www.mayoclinic.com/health/vitamin-b12/NS_patient-vitaminb12/DSECTION=safety).

En relación a otras causas asociadas con el SMA como la gastrectomía parcial, by-pass gástrico, vagotomía, la enfermedad de Crohn ó la infección por VIH (Dali-Youcef N, 2009), no se observó asociación significativa debido al escaso número de pacientes con estas patologías.

4. ALTERACIONES CLÍNICO-ANALÍTICAS Y ENFERMEDADES ASOCIADAS CON EL DÉFICIT DE VITAMINA B12

Anemia. En nuestros pacientes con déficit de Vitamina B12 la manifestación hematológica más frecuente fue la anemia con una prevalencia del 69,5% en el primer grupo de pacientes y un 70% en el grupo de 119 pacientes. Sin embargo, los tipos de anemia observados con mayor frecuencia fueron la *anemia mixta* y de *procesos crónicos*, presentando anemia megaloblástica un 13% de los pacientes del primer grupo y 17% del segundo. Es bien conocido que la anemia megaloblástica es una manifestación “característica” del déficit de Cobalamina (Carmel R, 1988; Fata FT, 1996; Bunting RW, 1997; Toh BH, 1997; Remacha A, 1999). Probablemente en muchos de nuestros pacientes, fundamentalmente en las anemias de trastornos crónicos su causa no estuvo relacionada con el déficit vitamínico. De hecho un número importante de ellos mostraron alteraciones en el patrón de hierro y otras comorbilidades que podían justificar la anemia. También es conocido que el déficit de Vitamina B12 puede coexistir con niveles de hemoglobina normales (Carmel R, 1988; Lindenbaum J,

1994; Fora MA, 2005) y un valor de hemoglobina normal no excluye el déficit de Cobalamina (Aguirre Errasti C, 2002; Iglesia Docampo A, 2007). No obstante, cabe destacar que los valores de Vitamina B12 se correlacionaron directamente con los valores de hemoglobina. Sin embargo, en un estudio francés no se observó asociación entre el déficit de Vitamina B12 y los valores de hemoglobina (Chiche L, 2013)

La *anemia mixta* debida al déficit combinado de Vitamina B12 y ferropenia resultó frecuente en nuestra serie (13,2%), aunque en un estudio reciente publicado por nuestro grupo sobre una serie de pacientes con anemia ferropénica este porcentaje fue superior (17%) (Gil Díaz A, 2013), cifra muy similar a la observada por Remacha y su grupo (Remacha AF, 2013). La coexistencia de ambos déficits se ha observado sobre todo en pacientes con gastritis crónica autoinmunitaria, infección por *H. Pylori*, enfermedad celiaca y postgastrectomizados (Hershko C, 2005; Hershko C, 2006). En nuestra cohorte la infección por *H. Pylori* y la gastritis atrófica fueron las patologías que se observaron con más frecuencia en estos pacientes.

La macrocitosis y la megaloblastosis, a pesar de constituir manifestaciones clásicas frecuentes (Carmel R, 1988; Fata FT, 1996; Bunting RW, 1997; Toh BH, 1997; Remacha A, 1999), se observaron con poca frecuencia en nuestro estudio.

La ferritina se encontró dentro de la normalidad en la mayor parte de nuestros pacientes, lo que concuerda con la mayor parte de los estudios revisados (Stabler SP, 1990; Carmel R, 2000; Dharmarajan TS, 2003; Andrès E, 2006; Carmel R, 2006; Andrès E, 2008; Andrès E, 2012).

Cabe destacar que dentro del grupo de manifestaciones hematológicas distintas a la anemia, las cifras elevadas de Lactatodeshidrogenasa (LDH) constituyeron en nuestro trabajo la manifestación común más frecuente después de la anemia, incluso más que la macrocitosis y la megabloblastosis. Consideramos, no obstante, que en algunos casos estas elevaciones podrían relacionarse con otras patologías.

Aunque la trombopenia se ha descrito como una manifestación rara (Stabler SP, 1990; Carmel R, 2000; Dharmarajan TS, 2003; Andrès E, 2006; Carmel R, 2006; Andrès E, 2008; Andrès E, 2012) de déficit de Vitamina B12, en nuestro estudio se encontró en un

rango de frecuencia similar a la macrocrocitosis. Asumimos que este hallazgo no se podría atribuir en muchos casos al déficit de esta vitamina, sino a otras condiciones presentes en nuestros pacientes, como el uso de heparinas de bajo peso molecular de manera rutinaria en los ancianos hospitalizados y al consumo de diuréticos tiazídicos en los que si se ha objetivado este fenómeno (Ban-Hoefen M, 2009; Tan CW, 2012). Ninguna de las manifestaciones actualmente descritas como infrecuentes en la literatura revisada se encontró en nuestro estudio (Stabler SP, 1990; Carmel R, 2000; Dharmarajan TS, 2003; Andrès E, 2006; Carmel R, 2006; Andrès E, 2008; Andrès E, 2012; Stabler SP, 2013).

Alteraciones no hematológicas: En nuestra serie las manifestaciones clínicas más frecuentes resultaron aquellas consideradas actualmente como "en estudio" (Stabler SP, 1990; Carmel R, 2000; Dharmarajan TS, 2003; Andrès E, 2006; Carmel R, 2006; Andrès E, 2008; Andrès E, 2012) y en este sentido el deterioro cognitivo y la depresión fueron las más representativas lo que no concuerda con otros estudios (McCaddon A, 2013). Aunque obviamente la coexistencia de estas manifestaciones no implican necesariamente una relación causal. No obstante, los síntomas neurológicos y psiquiátricos pueden ocurrir incluso en ausencia de enfermedad hematológica o neurológica sugestiva de déficit de la Vitamina B12 (Payinda G, 2000; Rajkumar AP, 2008; Sabeen S, 2009; Dogan M, 2012).

Los efectos del incremento de los niveles de homocisteína, los trastornos metabólicos asociados al déficit de Vitamina B12 y la predisposición genética son teorías que intentan explicar las manifestaciones neuropsiquiátricas (Mendoza Bermúdez C, 2008). En nuestro estudio la hiperhomocisteinemia resultó ser muy frecuente y se correlacionó de forma inversa significativa con los valores de Vitamina B12. Si bien es cierto que la coexistencia de otros factores de riesgo cardiovasculares y patologías crónicas pudieran explicar en parte el alto número de casos de deterioro cognitivo y trastornos afectivos de nuestra serie.

El deterioro de las funciones cognitivas, además de intentar ser explicado por los efectos de niveles incrementados de homocisteína y fallos en los procesos de metilación asociados a la degeneración de mielina perivascular y en otras regiones cerebrales, empeora por la oxidación de compuestos nitrogenados descritos por diferentes autores

(Goebels N, 2000; Lerner V, 2002; Mendoza Bermúdez C, 2008). La reversibilidad del deterioro cognitivo con tratamiento vitamínico de reemplazo en pacientes cuyo déficit se detecta precozmente apoya estas teorías, aunque las demencias de curso crónico responden pobremente al tratamiento vitamínico; pese a esto se recomienda que se instaure si se confirma la deficiencia de la Vitamina B12 (Mendoza Bermúdez C, 2008). En nuestro trabajo no se analizó si se trataba de un deterioro precoz ó de larga evolución, si bien es cierto que la hospitalización per se y la interurrencia de otros procesos agudos no constituyen el mejor momento para estudiar las funciones cognitivas de los pacientes. No obstante, es de reseñar que sólo el 70% de los pacientes de nuestra serie recibieron tratamiento sustitutivo al alta.

Algunos autores incluso consideran la deficiencia de Vitamina B12 como factor independiente para la depresión y en este sentido algunos estudios describen incluso una prevalencia dos veces superior en pacientes con déficit en relación a pacientes sanos. (Pennix BW, 2000; Tiemeir H, 2002). En nuestra serie la depresión estaba presente en el 21% de los casos. Consideramos sería necesario interpretar estos resultados con cautela, dada la pluripatología y polimedicación de nuestros pacientes.

Las manifestaciones neurológicas descritas como "comunes o clásicas" (Andrès E, 2012) siguieron en orden de frecuencia a las neuropsiquiátricas. En este grupo las más relevantes resultaron ser la polineuropatía y la esclerosis combinada subaguda. Para algunos autores, aunado a los elementos fisiopatológicos previamente descritos, éstas podrían explicarse a partir de los efectos neurotóxicos mediados por la estimulación de receptores de glutamato tipo NMDA de la homocisteína y sus derivados (Bottiglieri T, 1996; Mendoza Bermúdez C, 2008). Según diversos autores las polineuropatías son las manifestaciones neurológicas más frecuentes ligadas al déficit de Vitamina B12, sin embargo en nuestro trabajo fueron infrecuentes. No descartamos que exista un infradiagnóstico al respecto y en caso de sospecharse las mismas se puedan atribuir a otras causas como la diabetes mellitus.

Las manifestaciones clínicas consideradas "raras" como la incontinencia urinaria y fecal se encontraron en su conjunto en un grupo pequeño de nuestros pacientes sin que podamos establecer un mecanismo para esto tal y como se ha planteado igualmente en la literatura revisada (Andrès E, 2012; Stabler SP, 2013).

En nuestro estudio ninguno de los factores de riesgo cardiovasculares clásicos (diabetes mellitus, HTA ó dislipemia) se relacionó con el déficit de Vitamina B12.

Algunos autores han descrito mayor prevalencia de déficit de Vitamina B12 en pacientes con algún factor de riesgo cardiovascular como la diabetes.

Un estudio de diabéticos jóvenes tipo I observó una prevalencia muy elevada de déficit de Vitamina B12 (54%) (Koshy AS, 2012). En pacientes con diabetes tipo 2 se han descrito prevalencias elevadas de déficit de Vitamina B12, pero sobretudo en aquellos en tratamiento con metformina. Se han descrito cifras de prevalencia en este grupo de pacientes entre un 22-33% (Pflipsen MC, 2009; Marar O, 2011; Ouvarovskaia V, 2013).

Aunque la prevalencia de déficit de Vitamina B12 en los pacientes diabéticos de nuestra cohorte de 350 pacientes fue inferior (14%, 21 de 145), también fue bajo el número de pacientes tratados con metformina. El estudio de Mariño Suárez encuentra prevalencia más cercana a la nuestra (17%) siendo todos los pacientes tratados con metformina (Mariño Suárez JE, 2012).

Otros estudios han observado prevalencias más bajas como el de Jager, en el que demuestran basalmente una baja prevalencia de déficit de Vitamina B12 (en torno al 2%). Sin embargo, se comprobó tras la administración prolongada de metformina de forma randomizada un aumento significativo de la prevalencia del déficit de Vitamina B12 frente al grupo control (de Jager J, 2010). De igual forma Kos y su grupo demuestran niveles más bajos de Vitamina B12 en un grupo de pacientes tratados con metformina frente a otro grupo que no fueron tratados con metformina (Kos E, 2012).

Ouvarovskaia y su grupo estudiaron a 333 pacientes con diabetes tipo 2 tratados con metformina y observaron un déficit de Cobalamina en 89 individuos (26,7%) con un punto de corte para definir el déficit de Vitamina B12 de 180 pg/mL, límite inferior al empleado en nuestro estudio, si bien es cierto que en nuestro caso no hicimos distinción entre los que tomaban metformina y los que no (Ouvarovskaia V, 2013).

Por su parte Calvo et. al en una cohorte de 81 pacientes diabéticos en tratamiento con metformina observaron una prevalencia de déficit de Vitamina B12 en plasma (8,6%), también observaron que los pacientes tratados con metformina tuvieron unos niveles de Vitamina B12 menores. Sin embargo no pudieron demostrar una correlación de los niveles de Vitamina B12 con la dosis de metformina ni con el tiempo de tratamiento (Calvo Romero JM, 2012).

Reinstatler y su grupo analizando los datos obtenidos del estudio NANHES 1999-2006 encontraron una prevalencia de déficit de Vitamina B12 significativamente más alta entre los pacientes que estaban en tratamiento con metformina frente a los que no lo estaban (5,8% frente al 2,4%) (Reinstatler L, 2012).

De igual forma, en un estudio publicado recientemente por Obeid y su grupo tampoco encontraron diferencias significativas entre los niveles de Vitamina B12 y holotranscobalamina en un grupo de 92 pacientes diabéticos frente a un grupo control (n=72) (Obeid R, 2013).

Por otra parte, entre nuestros pacientes con déficit de Vitamina B12 la prevalencia de diabetes fue elevada, (56 de 119, 47,1%). Este valor se aproxima al 40% de prevalencia de diabetes en pacientes con déficit de Vitamina B12 observado por Tal. Este autor, al igual que nosotros no observó asociación entre la presencia de diabetes mellitus y los niveles bajos de Vitamina B12 en plasma (Tal S, 2010).

Zittan y su grupo tras inclusión en un modelo de regresión logística la presencia de diabetes, HTA, niveles elevados de lipoproteínas de baja densidad (LDL) e historia de enfermedad arterial coronaria (EAC) familiar, entre otros, sólo encontraron asociación significativa entre los niveles bajos de Vitamina B12 y la EAC familiar (Zittan E, 2007).

Al igual que en nuestro trabajo, Wang y cols. tampoco encontraron diferencias significativas entre el número de enfermedades crónicas tales como diabetes mellitus, hipertensión arterial, accidente cerebrovascular, enfermedad maligna, enfermedad vascular, enfermedad pulmonar, artritis/artrosis, y enfermedades cardíacas entre el grupo de pacientes con o sin déficit de Vitamina B12 (Wang YH, 2009).

Hábitos tóxicos: En nuestro estudio no se encontró asociación entre el consumo de alcohol y el déficit de Vitamina B12 a pesar de que éste se ha descrito como un factor de riesgo para ocasionar un síndrome de malabsorción de Cobalamina según diferentes autores (Wahlin A, 2002; Andrès E, 2004).

Otra posible razón por la que no se encontró asociación en nuestra serie pudiera deberse a la ausencia de hepatopatía alcohólica grave en los pacientes consumidores de alcohol; se ha descrito que en estos casos pueden existir niveles falsamente altos de Vitamina B12 en plasma con niveles tisulares bajos debido a una alteración en el almacenamiento hepático de esta vitamina y/o a la salida de esta vitamina al torrente sanguíneo desde el hígado enfermo (Kanazawa S, 1985; Lambert D, 1997; Baker H, 1998; Fragasso A, 2010).

Al igual que en los estudios de Wahlin & Fora (Wahlin, 2002; Fora MA, 2005), no encontramos asociación entre el consumo de tabaco y el déficit de Vitamina B12, a pesar de que algunos autores han descrito que los componentes químicos de éste, nitratos orgánicos primordialmente, óxido nitroso, cianatos e isocianatos pueden interaccionar con los folatos y las coenzimas de la Vitamina B12 con la consecuente transformación de estos en componentes inactivos (Piyathilake CJ, 1994; Tungtrongchitr R, 2003). Otra explicación a este fenómeno podría obedecer a los incorrectos hábitos dietéticos descritos en pacientes fumadores con el consecuente menor aporte dietario de Vitamina B12. Nuestro resultado está en concordancia con el resultado de Pagan y cols. (Pagan K, 2001) y opuesto a los resultados de Tungtrongchitr y su grupo (Tungtrongchitr R, 2003).

Hipotiroidismo: El hipotiroidismo se ha relacionado con la deficiencia de Vitamina B12 en algunos casos a partir de que el 25% de los pacientes con anemia perniciosa podrían tener alguna forma clínica o subclínica de enfermedad tiroidea autoinmune (Lindenbaum J, 1964; Ford HC, 1989; Lippi G, 2008). Esta asociación puede observarse en el contexto del Síndrome poliglandular autoinmune tipo II. No obstante, en nuestro estudio no se encontró esta asociación al igual que lo descrito por otros autores (Caplan RH, 1975; Lien EA, 2000; Barbe F, 2001; Ness-Abramof R, 2006; Stella G, 2007; Lippi G, 2008). Sin embargo, otros autores han encontrado asociación

entre el hipotiroidismo y la deficiencia de Vitamina B12 (Orzechowska-Pawilojc A, 2007; Lippi G, 2008).

Tratamientos al alta: El tratamiento sustitutivo con Vitamina B12 resulta fundamental para prevenir complicaciones hematológicas y neurológicas irreversibles (Carmel R, 2000; Reynolds E, 2006; Dali-Youcef N, 2009; Andrès E, 2012; Stabler SP, 2013). Es llamativo que sólo en el 70% de los informes de alta de nuestra serie se considerara la deficiencia de Vitamina B12 como entidad independiente. Su falta de consideración se asoció con la no indicación de tratamiento sustitutivo.

No obstante, aunque todos los informes en los que no se mencionaba esta circunstancia estaban asociados con un déficit leve de Vitamina B12, consideramos que estos pacientes constituyen un grupo de riesgo alto de desarrollar a medio plazo complicaciones asociadas a la deficiencia de esta vitamina, especialmente pacientes de mayor edad (atrofia gástrica) o en tratamiento con fármacos que disminuyan la absorción de la Vitamina B12 como los IBP o la metformina. Resulta especialmente llamativo que el 30% de los pacientes al ingreso tomaban IBP, mientras que al alta este porcentaje aumentaba hasta alcanzar un 79%.

Por otra parte, el tratamiento de la infección por HP es importante en pacientes con gastritis. De hecho en la III Conferencia Española de Consenso sobre la infección por *Helicobacter pylori* se recomienda que en pacientes con déficit de Cobalamina no explicable por otras causas se debe investigar y tratar esta infección (Gisbert JP, 2013). Se ha descrito que la erradicación de la infección mejora los niveles plasmáticos de la Vitamina B12 hasta en el 40% de los pacientes (Kaptan K, 2000). Otros trabajos obtienen resultados similares (Serin E, 2002; Ozer B, 2005; Marino MC, 2007). En un reciente metanálisis publicado en 2012 por Lahner y su grupo demuestran un efecto positivo en los niveles de Vitamina B12 plasmática tras realizar tratamiento erradicador de HP (Lahner E, 2012). En nuestra serie, menos del 60% recibió tratamiento erradicador de la infección por *H. Pylori*.

5. POLIMORFISMO C677T DEL GEN DE LA ENZIMA 5,10- METILEN-TETRAHIDROFOLATO REDUCTASA (MTHFR)

5.1 Prevalencia de las formas genotípicas del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR

En nuestro estudio se objetivó una prevalencia de 10,2% del *genotipo TT* considerando de forma global pacientes y controles. En el grupo de pacientes la prevalencia de este genotipo fue más elevada (12,6%) que en el grupo control (7,7%) sin alcanzar la diferencia la significación estadística. Estos resultados están en consonancia con lo comunicado en otros trabajos de población caucásica donde la frecuencia del genotipo TT varía entre el 5-15% (Chango A, 2000; Sam RC, 2003; Siva A, 2007; Holm PI, 2007; Vollset SE, 2007; Szperl M, 2008; Redéen S, 2010).

La prevalencia de esta forma genotípica varía en relación con las áreas geográficas y origen étnico. En Europa se describe un “gradiente norte sur” con aumento de la prevalencia en las zonas del sur (Pepe G, 1998; Wilcken B, 2003; Yang B, 2013). Así en España y en otros países del área mediterránea el polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10- MTHFR es más frecuente (12-15%) en relación al norte de Europa, describiéndose valores intermedios (8-10%) en Francia y Hungría y valores bajos (4 a 7%) en Finlandia, Helsinki y Rusia (Gil-Prieto R, 2008, González Martín-Moro B, 2005; García Hernández MC, 2007; Wilcken B, 2003).

En **España**, se han publicado distintos trabajos que han estudiado la prevalencia del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR e incluso han analizado los cambios en su prevalencia en el tiempo.

La prevalencia de la *forma TT* observada en nuestro trabajo es levemente inferior a lo referido en dos estudios realizados en el archipiélago canario en los que se obtuvieron unas prevalencias del 14,7 y del 18,4%, respectivamente. Sin embargo, estos estudios fueron realizados en poblaciones con características diferentes como en el trabajo de De La Vega en pacientes alcohólicos hospitalizados (de la Vega MJ, 2001) y en pacientes hipertensos en el estudio de Rodríguez-Esparragón (Rodríguez-Esparragón F, 2003).

En 2004, se publica un trabajo español cuyo objetivo principal era estudiar la distribución de las formas CC, CT y TT del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR en 652 recién nacidos de distintas comunidades autónomas de España. Los resultados reflejan una variabilidad de la frecuencia del *genotipo TT* entre el 9,46% y el 14,94% (Martínez Frías ML, 2004).

Resultado algo superior al obtenido en nuestro trabajo se obtiene en otro estudio español más reciente realizado en 317 adolescentes con edades comprendidas entre 13 y 17 años, donde el *genotipo TT* estaba presente en el 14,2% de los individuos (Gil-Prieto R, 2008). Mayor-Olea en una revisión de 1.305 sujetos nacidos en España en el pasado siglo (1900-2000) observa un aumento significativo de la forma TT entre los sujetos nacidos entre los años 1975 y 2000 con respecto a los nacidos en otras décadas (Mayor Olea A, 2008). Sugiere que este cambio podría relacionarse con el aumento de la viabilidad fetal en fases tempranas del desarrollo embrionario, por el aumento de consumo de folatos y vitaminas por parte materna.

Años antes, Muñoz-Morán en una muestra de casi 700 individuos sanos nacidos en el sur de España también encontró un aumento significativo del *genotipo TT* entre los individuos más jóvenes (edades inferiores a los 20 años). Según este autor, podría existir una asociación entre la suplementación temprana con ácido fólico en el periodo gestacional y el aumento del número de niños nacidos con el *genotipo TT*, especialmente en madres portadoras de esta forma genotípica. La dieta mediterránea también podría influir en estos resultados (Muñoz-Morán E, 1998). Según otros autores esta variabilidad podría deberse a influencias genéticas no bien establecidas ó factores ambientales (Yang B, 2013). Incluso algunos autores han postulado sobre la posibilidad de que las radiaciones ultravioleta puedan influir en los patrones del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR por la fotólisis del folato (Cordain L, 2006).

En nuestro trabajo tanto en los casos como en los controles se corrobora la mayor frecuencia de las formas anómalas ya descrita en otros estudios realizados en nuestro país (Martínez Frías ML, 2004; García Pinilla JM, 2005; Sánchez Marín B, 2006; González-Porras JR, 2007; Gil-Prieto R, 2008).

Sin embargo, en otras regiones del mundo se ha comunicado una menor frecuencia de estas formas anómalas del polimorfismo C677T del gen de la MTHFR (Dilley A, 2001; Friso S, 2002; Ho GY, 2006; Holm PI, 2007; Ilhan N, 2008; Ibrahim S, 2009; Ozmen F, 2009; Kanth VV, 2011; Sukla KK, 2012, Liew SC, 2012).

5.2 Relación entre el polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR, niveles de Vitamina B12 y homocisteína en plasma

La asociación de niveles bajos de Vitamina B12 y la forma TT del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR ha sido observada por varios autores (Kluitjmans LA 2003; Andreassi MG, 2003; Zittan E, 2007; Thuesen BH, 2010). Sin embargo, en nuestro estudio no se observó esta asociación. No se observaron diferencias en los niveles de Vitamina B12 en función de los distintos polimorfismos del gen de la enzima 5,10 MTHFR ni en el grupo control, ni en el grupo de pacientes con déficit de Vitamina B12.

Entre los estudios que demuestran asociación entre los niveles más bajos de Vitamina B12 y la forma termolábil del polimorfismo C677T cabe destacar el de Kluitjmans y su grupo. En una muestra de 452 individuos jóvenes, documentaron niveles de Vitamina B12 significativamente inferiores en los sujetos que presentaban la forma TT frente a los que presentaban la forma CT. Apuntan una posible interacción entre los niveles de folato sérico, los niveles de Vitamina B12 y el polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR (Kluitjmans LA, 2003).

En ese mismo año, Andreassi en una muestra mucho más pequeña de pacientes con enfermedad arterial coronaria (EAC) demostrada angiográficamente encuentra los mismos resultados, pero sin argumentar ninguna razón para esos hallazgos (Andreassi MG, 2003).

Zittan et al. demuestra una probabilidad 4,2 mayor de padecer un déficit de Vitamina B12 entre los sujetos que presentan la forma TT. Además confirman que la prevalencia de déficit de Vitamina B12 es significativamente mayor en este grupo (Zittan E, 2007).

Thuesen et al. también encontraron una asociación significativa entre el déficit de Vitamina B12 y el genotipo TT del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR (Thuesen BH, 2010).

Otros autores han constatado niveles menores de Vitamina B12 en pacientes portadores de la forma TT, aunque sin alcanzar la significación estadística (Holm PI, 2007; Mokorram P, 2008). Así, en una amplia muestra de pacientes (n=10.601), Holm y su grupo constatan unos niveles de Vitamina B12 en plasma ligeramente más bajos en los individuos portadores de la forma TT frente a los portadores de las formas CT y CC, aunque sin alcanzar la significación estadística (Holm PI, 2007). Mokorram y su grupo también encontraron en 151 pacientes con cáncer colorrectal niveles medios más bajos de Vitamina B12 en plasma en los individuos portadores de la forma TT frente a los que presentaban la forma CC, aunque sin alcanzar la significación estadística (Mokorram P, 2008).

Por otra parte, otros trabajos, al igual que nosotros, no observan asociación entre la deficiencia de Vitamina B12 y las distintas formas del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR (Motti C, 1998; D'Angelo A, 2000; García Pinilla JM, 2005; Barbosa PR, 2008; Palladino M, 2009; Tanaka T, 2009; Erdogan MO, 2010; Yacub M, 2012).

Motti et al. estudiaron una muestra de 155 sujetos jóvenes con una edad media de 38 años en los que no encontraron diferencias entre los niveles de Vitamina B12 y la distribución genotípica (Motti C, 1998).

En el año 2000, D'Angelo y su grupo tampoco observaron diferencias de los niveles de Cobalamina en relación a los genotipos del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR (D'Angelo A, 2000).

En el año 2005, García Pinilla en un interesante trabajo realizado en Málaga en una cohorte de 155 pacientes con EAC demostrada angiográficamente, tampoco observó diferencias en los niveles de Vitamina B12 en relación a los distintos genotipos del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR (García Pinilla JM, 2005).

Barbosa et al. tampoco obtuvieron diferencias significativas entre las distintas formas del este polimorfismo en relación a los niveles de Vitamina B12 (Barbosa PR, 2008).

Por su parte, Palladino y su grupo en una pequeña muestra de 30 pacientes con déficit de Cbl tampoco encontró asociación entre los niveles de Vitamina B12 y los genotipos del polimorfismo C677T del gen de la MTHFR (Palladino M, 2009).

Tanaka et al. analizaron a través de 3 estudios (Invecchiare nel Chianti, InCHIANTI, n= 1175, Sardinia National Institute on aging, SardiNIA, n=115 y Baltimore Longitudinal Study of aging, BLSA= 640) la influencia de 10 mutaciones genéticas, entre ellas la C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR sobre los niveles de Vitamina B12 y homocisteína, entre otros. No demostraron asociación significativa entre los niveles de Vitamina B12 y los genotipos del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR en ninguno de los 3 estudios (Tanaka T, 2009).

Un estudio turco realizado con 33 niños con defectos de tubo neural tampoco objetivó diferencias significativas en los niveles de Vitamina B12 en relación a las distintas formas del polimorfismo del gen de la enzima 5,10-MTHFR (Erdogan MO, 2010).

Recientemente, Yacub y su grupo en un estudio transversal que incluyó a 872 individuos sanos pakistanís evaluaron la prevalencia de los genotipos. Sólo encontraron un 28,6% formas anómalas (26,1% con el genotipo CT y 2,5% con el genotipo TT). No demostraron diferencias significativas entre los genotipos del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR y los niveles de Vitamina B12 (Yacub M, 2012).

El mecanismo que podría explicar la asociación entre la presencia de formas anómalas del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR y menores niveles de vitamina B12 no se conoce. Se ha argumentado que la deficiencia de Cobalamina podría obedecer a alguna anomalía en el metabolismo de la Hcy secundaria a la mutación genética o incluso se apunta la posibilidad de que exista alguna otra vinculación genética que pudiera explicar esta combinación (Zittan E, 2007). También se han descrito posibles anormalidades no identificadas de la MS o de otras enzimas que participan en la ruta metabólica de la homocisteína que podrían desempeñar un papel importante para justificar esta asociación (D'Angelo A, 2000).

Por otra parte, la asociación entre hiperhomocisteinemia y la forma anómala TT del polimorfismo C677T de la enzima MTHFR si tiene un claro mecanismo fisiopatológico, al ser responsable de una variante termolábil de la enzima con una actividad reducida de la misma. Varios autores han demostrado que la condición homocigota TT del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR se relaciona de forma significativa con hiperhomocisteinemia (James SJ, 1999; Kluitjmans LA, 2003; Selhub J, 2008; Coppedè F, 2009). Así autores como Tanaka y Erdogan que no observaron asociación entre los niveles de Vitamina B12 y las formas anómalas del polimorfismo C677T sí han constatado asociación de la forma TT con niveles plasmáticos más elevados de homocisteína (Tanaka T, 2009; Erdogan MO, 2010). En nuestro estudio sólo encontramos asociación entre los niveles de homocisteína plasmática y los individuos sanos portadores de la *forma TT* del polimorfismo. Probablemente no se observó esta asociación en el grupo de pacientes con déficit de Vitamina B12 por la elevada prevalencia de hiperhomocisteinemia, cercana al 80%.

Otro aspecto con potencial relevancia es la coexistencia de déficit de Vitamina B12, con la forma TT del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR, ya que ambos factores se asocian a elevación de homocisteína, lo cual puede originar una mayor elevación de este aminoácido (Motti C, 1998; Barbosa PR, 2008; Tanaka T, 2009; Yacub M, 2012) dando lugar en algunos casos a una hiperhomocisteinemia moderada ó severa (Chung SL, 2006; Zittan E, 2007).

Así Motti sobre una muestra de voluntarios sanos demostró que aquellos que presentaban niveles de Vitamina B12 por debajo de la media se asociaban con unos niveles de homocisteína significativamente más elevados en aquellos que presentaban el genotipo TT (Motti C, 1998). Zittan demostró igualmente que los individuos con deficiencia de Vitamina B12 y portadores de la forma TT presentaban de forma significativa niveles de homocisteína más elevados en plasma (Zittan E, 2007). Por su parte, Barbosa, también constató en mujeres embarazadas mayores niveles de homocisteína en las portadoras de la forma TT del polimorfismo C677T del gen de la MTHFR cuando coexistía déficit de Vitamina B12. (Barbosa PR, 2008). Yacub et al. demostraron que el riesgo de hiperhomocisteinemia se incrementa en 4,2 veces entre los individuos con déficit de Vitamina B12 y portadores de las formas anómalas del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR (CT+TT) (Yacub M, 2012).

Desafortunadamente, en el grupo de pacientes con déficit de Vitamina B12 esta asociación no alcanzó la significación estadística. Probablemente de haber sido la muestra más amplia podría haberse demostrado esta asociación. Algunos autores tampoco han podido constatar una clara asociación entre homocisteína, niveles de Vitamina B12 y formas anómalas del gen de la MTHFR (Nadir Y, 2007).

5.3 Relación entre el polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR y la presencia de anemia en los pacientes con déficit de Vitamina B12.

En relación con las manifestaciones clínicas asociadas con el déficit de Vitamina B12 no se ha podido aclarar por qué se producen manifestaciones hematológicas en unos individuos y manifestaciones neurológicas en otros. Una hipótesis que intenta aclarar este fenómeno es la teoría del gen de la enzima 5,10-MTHFR. La forma TT del polimorfismo C677T del gen de la 5,10-MTHFR se ha postulado como un elemento protector contra la anemia. Según varios estudios, la homocigocidad TT podría causar una disociación entre la enfermedad hematológica y neurológica en los pacientes con déficit de Vitamina B12 (Nilsson-Ehle H, 1991; Dogan M, 2012).

Al igual que en nuestro estudio, otros trabajos no han objetivado que ninguna de las formas del polimorfismo C677T de la enzima 5,10-MTHFR sea protector frente a la anemia ó las disfunciones neurológicas propias del déficit de Vitamina B12 (Palladino M, 2009).

6. EVENTOS CARDIOVASCULARES, REINGRESOS Y MORTALIDAD. RELACION CON DÉFICIT DE VITAMINA B12, HOMOCISTEINA y POLIMORFISMO C677T DEL GEN DE LA MTHFR

Eventos cardiovasculares, mortalidad en el seguimiento y relación con los niveles de Vitamina B12 y homocisteína

En nuestro trabajo, en el estudio de prevalencia de déficit de Vitamina B12, no se demostró asociación entre los niveles bajos de Vitamina B12 y los diagnósticos o antecedentes de cardiopatía isquémica, accidente cerebrovascular o arteriopatía periférica.

Al igual que en nuestro estudio, van Oijen y su grupo no observaron mayor frecuencia de eventos cardiovasculares en los pacientes con niveles de Vitamina B12 más bajos (< 250 pmol/L) frente a los que presentaban niveles más elevados tras estudiar 221 pacientes dados de alta de una Unidad de Cuidados Coronarios (van Oijen MG, 2007).

Sin embargo, algunos estudios sí han constatado asociación entre niveles bajos de Vitamina B12 y aumento de enfermedad vascular (Shahar A, 2001; Weikert C, 2007; Zsóri KS, 2013). Rafnsson realizó una revisión sistemática evaluando el papel de la Vitamina B12 como posible factor de riesgo cardiovascular, observando escasas evidencias (Rafnsson SB, 2011).

Shahar y cols. observaron que la enfermedad cerebrovascular fue significativamente más frecuente entre los pacientes que presentaban niveles más bajos de Vitamina B12 (Shahar A, 2001).

Weikert y su grupo en una cohorte muy amplia de individuos alemanes (n=25.770) demostraron una asociación significativa entre los niveles bajos de Vitamina B12 en plasma y un aumento de riesgo de presentar un ictus isquémico, tras ajustar por los niveles de homocisteína plasmática, especialmente si se asociaba con niveles bajos de folato en plasma (Weikert C, 2007).

Zsóri y su grupo demuestran niveles significativamente más bajos de Vitamina B12 en un grupo de pacientes con enfermedad arterial periférica (EAP) frente a un grupo control. Estos resultados se mantienen incluso después de ajuste de variables como HTA, DLP, índice de masa corporal, niveles de folato u Hcy (Zsóri KS, 2013).

Resulta difícil explicar la relación entre niveles bajos de Vitamina B12 y eventos cardiovasculares si se excluye el papel de la hiperhomocistinemia. Se ha propuesto la elevación de proteínas pro-inflamatorias en individuos con niveles bajos de Vitamina B12 en plasma, postulándose que estas sustancias pudieran estar asociadas con un aumento del riesgo de accidente cerebrovascular agudo isquémico (Wels P, 2008).

Vitamina B12 y mortalidad: La evidencia científica sobre la posible asociación entre los niveles bajos de Vitamina B12 en plasma y un aumento de la mortalidad cardiovascular es muy escasa (Rafnsson SB, 2011). En consonancia con los resultados obtenidos en nuestro estudio, otros autores tampoco han encontrado una asociación entre las cifras bajas de Vitamina B12 en plasma y un mayor riesgo de mortalidad cardiovascular (Marniemi J, 1998; Hung J, 2003; van Oijen MG, 2007) o muerte por cualquier causa (Dangour AD, 2008; Corcoran TB, 2009; Robinson DJ, 2011; Gopinath B, 2012).

En 1998, Marniemi en una cohorte de 344 mayores de 65 años con un seguimiento de 13 años observaron inicialmente una asociación entre los niveles plasmáticos bajos de Cobalamina y la mortalidad cardiovascular. Sin embargo, al ajustar por edad no se mantenía la significación (Marniemi J, 1998).

Hung y su grupo estudiaron una amplia muestra de casi 3.000 individuos entre los 20 y los 90 años con un seguimiento de 29 años. Tras ajustar la edad y los factores de riesgo cardiovasculares habituales observaron la falta de asociación entre los niveles de Vitamina B12 en plasma y muerte por enfermedad coronaria o enfermedad cardiovascular (Hung J, 2003).

van Oijen y su grupo siguieron durante 5 años a un grupo de 211 pacientes dados de alta de una Unidad de Cuidados Coronarios. No observaron asociación entre los niveles bajos de Vitamina B12 en plasma y mortalidad cardiovascular (van Oijen MG, 2007)

En el Reino Unido un estudio prospectivo realizado en individuos mayores (n=853 y edad media 78,6 años) y con un seguimiento medio de 7,6 años no se demostró asociación entre los niveles de Vitamina B12 y mortalidad cardiovascular o por cualquier causa (Dangour AD, 2008)

Robinson et al. en una muestra de 446 individuos mayores de 75 años no observaron asociación entre la mortalidad por cualquier causa y los niveles bajos de Vitamina B12 en plasma (Robinson DJ, 2011). Otro estudio ambulatorio realizado entre 3.000 individuos australianos tampoco demostró esta asociación (Gopinath B, 2012).

Por su parte, González y su grupo estudiaron 215 pacientes institucionalizados con edad igual ó superior a 60 años. Realizaron un seguimiento medio de 4,3 años. Al igual que los autores previos, no encontraron correlación entre los niveles de Vitamina B12 y riesgo de muerte por cualquier causa (González S, 2007).

Por último, Corcoran y su grupo en un estudio realizado con pacientes graves ingresados en una Unidad de Medicina Intensiva (UMI) comprobaron la ausencia de asociación entre el déficit de Vitamina B12 y la mortalidad por cualquier causa o gravedad de la enfermedad (Corcoran TB, 2009).

Hay varios mecanismos biológicos potenciales que podrían relacionar el déficit de Vitamina B12 con un aumento de la mortalidad. Los niveles más bajos de Cobalamina se asocian con mayor homocisteinemia plasmática (Selhub J, 1993; Carmel R, 2003; Selhub J, 2007; Dangour D, 2008; Langan RC, 2011; Hughes CF, 2013), la cual está asociada con la mortalidad en las personas de edad avanzada (Boston AG, 1999; Dangour AD, 2008; Xiu LL, 2012; Wong YY, 2013). Por otra parte, los niveles bajos de Vitamina B12 son un marcador de fragilidad, la cual está relacionada con mortalidad (Matteini AM, 2008; Heppner HJ, 2010).

Sin embargo, en nuestro trabajo si observamos una asociación que resultó significativa entre los niveles elevados de Vitamina B12 en plasma y la mortalidad durante el seguimiento.

Esta relación entre mortalidad y mayores niveles de Vitamina B12 ya había sido observada previamente por nuestro grupo (Hemmersbach-Miller M, 2005). Sobre una cohorte de 367 individuos mayores de 65 años hospitalizados se constató una asociación significativa entre los niveles más altos de Vitamina B12 en plasma y muerte intrahospitalaria (Hemmersbach-Miller M, 2005).

Igualmente, otros estudios han observado que los niveles elevados de Vitamina B12 en plasma constituyen un fuerte predictor de la mortalidad en los pacientes mayores hospitalizados tanto durante su ingreso como tras el alta médica (Shahar A, 2001; Salles N, 2005; Salles N, 2008; Baztan JJ, 2010; Tal S, 2010; Tal S, 2011; Sviri S, 2012).

Shahar y su grupo en una muestra de 640 pacientes hospitalizados mayores de 65 años demostraron de forma significativa una mayor mortalidad entre los individuos con niveles plasmáticos de Vitamina B12 >250 pmol/L (Shahar A, 2001).

De igual forma Salles y su grupo demostraron en dos trabajos que los niveles altos de Vitamina B12 en suero constituían un fuerte predictor de mortalidad en pacientes mayores hospitalizados (Salles N, 2005; Salles N, 2008). Sugieren que dado el alto valor predictivo de mortalidad se debería realizar la determinación de los niveles Cobalamina en todos los pacientes de edad avanzada con enfermedades graves incluso en ausencia de cáncer dado que podría contribuir de forma eficaz en la toma de decisiones y plan de cuidados (Salles N, 2008).

Por su parte, tanto Tal y cols. como Baztan y cols. comunicaron que la elevación en las cifras de Vitamina B12 en suero resultaron ser un factor predictor de mortalidad superior al índice de comorbilidad de Charlson (Baztan JJ, 2010; Tal S, 2011). Años antes Geissbühler y su grupo demostraron en un grupo de pacientes hospitalizados con enfermedad neoplásica avanzada que los niveles elevados de Vitamina B12 en plasma constituían un factor de riesgo de mortalidad independiente de los niveles de proteína C reactiva y de otros factores. Consideran que los niveles incrementados de Vitamina B12 podrían ser un indicador de afectación hepática e inflamación (Geissbühler P, 2000).

En el ámbito ambulatorio disponemos de los resultados del Bronx Aging Study, un estudio longitudinal de 10 años realizado en personas mayores (n=440 con edad media

de 79 años). Se observó un aumento de la incidencia de la mortalidad en los sujetos que presentaban un aumento de los niveles plasmáticos de Vitamina B12 (Zeitlin A, 1997).

Sin embargo, Robinson y su grupo no demostraron una asociación entre los niveles elevados de Vitamina B12 y mortalidad. En parte atribuyen estos resultados al corto periodo de estudio y baja mortalidad obtenida en ese periodo. Además consideran que la cohorte seleccionada con individuos sanos ambulatorios presentan una menor prevalencia de enfermedades graves lo que pudiera explicar esta falta de asociación (Robinson DJ, 2011).

Por su parte, Looker y su grupo en una cohorte de 396 diabéticos con un seguimiento medio de 15 años, aunque inicialmente observaron una asociación entre niveles elevados de Vitamina B12 y mortalidad por cualquier causa, tras ajuste por edad, sexo y duración de la diabetes no encontraron una asociación significativa entre los niveles Vitamina B12 y muerte por causa cardiovascular o infecciosa, aunque si demostraron una asociación positiva con la muerte asociada a la diabetes o al deterioro de función renal. No obstante, dado que no se recogió el consumo previo de suplementos vitamínicos no se puede determinar si la asociación entre los niveles elevados de Vitamina B12 y la mortalidad pudiera deberse a esta circunstancia (Looker HC, 2007)

Otros estudios revisados fueron realizados en pacientes ingresados en Unidades de Medicina Intensiva (UMI), los cuales también observaron resultados similares a los obtenidos en nuestro trabajo (Schindler K, 2000; Corcoran TB, 2009; Sviri S, 2012).

Schindler y su grupo llevaron a cabo un estudio de casos-control (56 pacientes ingresados en UMI frente a 112 individuos sanos). Entre los pacientes que fallecieron se registraron niveles séricos de Vitamina B12, folato y homocisteína más elevados, aunque sin alcanzar la significación estadística. Sin embargo, no dan ninguna explicación a estos resultados (Schindler K, 2000).

Corcoran y su grupo estudiaron 129 pacientes que ingresaron en UMI. Los pacientes que fallecieron presentaron significativamente niveles de Vitamina B12 más altos (537 vs 431 pmol/L, $p=0,042$). Además, demostraron una correlación positiva entre las concentraciones plasmáticas elevadas de Vitamina B12 y las concentraciones de la

proteína C reactiva (Corcoran TB, 2009), lo que apoya la teoría de la intervención de esta vitamina en la respuesta inflamatoria y su papel como reactante de fase aguda (Gray A, 2004). Por último, Sviri y su grupo tras estudiar un grupo de 663 pacientes con ingreso en una Unidad de Medicina Intensiva concluyen que los niveles altos de Vitamina B12 sérica (>900 pg/mL) se asocian significativamente con una mayor mortalidad. Al igual que Salles y su grupo sugieren que la determinación de los niveles séricos de esta vitamina deberían ser incluidos en la práctica clínica habitual dentro de estas unidades, especialmente en aquellos con antecedentes de enfermedades crónicas y gravedad elevada del proceso agudo que motiva el ingreso en este tipo de unidades (Salles N, 2008; Sviri S, 2012).

A diferencia de lo comunicado en los trabajos previos, en nuestro estudio no encontramos asociación entre los niveles elevados de Vitamina B12 y la mortalidad intrahospitalaria sino tras el alta hospitalaria. Quizás estos resultados puedan explicarse en parte por el bajo número de fallecidos que se produjeron en nuestra serie durante el ingreso. No obstante, nuestros resultados están en consonancia con los obtenidos por Zeitlin y su grupo que sí observaron una mayor mortalidad a largo plazo (Zeitlin A, 1997).

La causa de la posible asociación entre los niveles elevados de Vitamina B12 en suero y la mortalidad no está clara (Salles N, 2005; Corcoran TB, 2009; Tal S, 2010; Baztan JJ, 2010; Tal S, 2011; Sviri S, 2012).

Varios trabajos han observado una elevación de los niveles plasmáticos de Vitamina B12 en insuficiencia renal, enfermedades hepáticas y hemopatías malignas (Carmel R, 2001; Ermens AA, 2003; Chiche L, 2008; Serraj K, 2011; Arendt JF, 2012; Cosma Rochat M, 2012; Andrès E, 2013). Sin embargo, el número de pacientes con los diagnósticos de hepatopatías y hemopatías en nuestra serie fue escaso y los pacientes con deterioro de función renal (creatinina en plasma >2 mg/dL) quedaron excluidos en nuestro estudio.

Se ha sugerido que los niveles elevados de Cobalamina pueden estar relacionados con una deficiencia funcional y cualitativa (Lambert D, 1997; Baker H, 1998; Salles N, 2008; Gauchan D, 2012; Sviri S, 2012; Andrès E, 2013).

Varios autores explican el incremento paradójico de los niveles de Cobalamina sérica tanto por una disregulación en la síntesis de haptocorrina y Transcobalamina II (TC II) (aumento y descenso de la producción, respectivamente) como por una mayor liberación hepática de Vitamina B12 al plasma por citolisis hepática o incapacidad hepática para su almacenamiento (Gimsing P, 1995; Baker H, 1998; Carmel R, 2001; Gauchan D, 2012).

Andrès y su grupo sugieren que la hipervitaminosis implica una mayor unión de la Vitamina B12 a las proteínas transportadoras I y III (responsables de transportar el 80% de la Vitamina B12 circulante), que conllevaría a una disminución potencial de la TC II y por lo tanto una proporción baja de Cobalamina activa sería cedida a las células (Andrès E, 2013).

En resumen, existen varios trabajos que relacionan los niveles elevados de Vitamina B12 en plasma con un aumento de mortalidad, incluido nuestra serie, aunque en nuestro caso sólo obtuvimos una asociación significativa con la mortalidad a largo plazo. Actualmente los mecanismos que puedan justificar esta asociación aún no están bien determinados.

Sin embargo, como señala Baztan en un trabajo publicado en 2010 aún quedan varias cuestiones sin resolver, ¿Cuál es el punto de corte de la vitamina B12 valor que predice el riesgo de la muerte? (481 pmol/L como se obtiene en el estudio de Baztan vs 351 pmol/L como resulta ser en el estudio de Tal) (Tal S, 2010) ¿Está este riesgo relacionado con niveles más bajos de homocisteína plasmática, o se trata de una asociación independiente? (González S, 2007), ¿Por qué hay estudios que han encontrado un mayor riesgo de cáncer y muerte en los pacientes suplementado con Vitamina B12 y ácido fólico? (Ebbing M, 2009). Y por tanto cuáles son los niveles séricos óptimos de Vitamina B12? (Baztan JJ, 2010).

Homocisteína y mortalidad: Es conocido el aumento de riesgo de eventos cardiovasculares en relación con la elevación de la homocisteína (McCully KS, 2005; Kumar J, 2009; Lee YM, 2012; Lippi G, 2012; Kamdi SP, 2013). Así, a diferencia de los resultados obtenidos en nuestro trabajo, diversos estudios demuestran que la hiperhomocisteinemia constituye un factor independiente aumento de eventos

cardiovasculares y de muerte por cualquier causa, no sólo cardiovascular (Xiu LL, 2012; Wakiewicz A, 2012; Gopinath B, 2012; Wong YY, 2013).

Las enfermedades cardiovasculares constituyen en la actualidad la primera causa de muerte en los países industrializados, incluyendo nuestro país (Banegas JR, 2006; INE, 2013). Según varios estudios los residentes canarios tienen la tasa de mortalidad cardiovascular ajustada por edad más alta de España (Saavedra JM, 2001; Boix Martínez R, 2003; Banegas JR, 2006; Cabrera de León A, 2008). Aún no se han determinado las causas que pueden determinar este hecho, aunque la hiperhomocisteinemia (Hhcy) podría jugar un papel para explicar esta alta tasa de mortalidad (Henríquez P, 2007).

En nuestro estudio, a pesar de la alta prevalencia de hiperhomocisteinemia en los pacientes con déficit de vitamina B12, (79,2%) los niveles elevados de homocisteína en plasma no se relacionaron con la mortalidad tras el alta.

Sin embargo, otros autores si han constatado aumento de mortalidad en pacientes con hiperhomocisteinemia (Xiu LL, 2012; Waśkiewicz A, 2012; Gopinath B, 2012; Wong YY, 2013).

Xiu et al. establecieron en una muestra de 1.415 individuos mayores taiwaneses un riesgo de mortalidad 1,8 veces superior en los individuos con cifras elevadas de Hcy en plasma (Xiu LL, 2012).

En una amplia muestra de individuos polacos (n=7.165), el RR para mortalidad por cualquier causa ó por causa cardiovascular fue significativamente más alto en el grupo de sujetos con cifras más altas de Hcy (>10,5 µmol/L) frente a los individuos con cifras más bajas (< 8,20 µmol/L) (Waśkiewicz A, 2012).

Gopinath y su grupo demostraron en una cohorte de 3010 individuos australianos mayores de 55 años que la hiperhomocisteinemia (>15 µmol/L) fue un predictor de mortalidad por cualquier causa y por causa cardiovascular (Gopinath B, 2012).

En una cohorte de 4.248 australianos con edades entre 70 y 88 años, la Hhcy se asoció de forma significativa con cualquier causa de mortalidad, incluso tras ajuste de variables asociadas con fragilidad fase aguda o con la disminución de los niveles de albúmina (Wong YY, 2013).

Por nuestra parte, si observamos que la hiperhomocisteinemia se asoció a un mayor número de reingresos. Este aspecto ha sido poco estudiado en la literatura. En un estudio realizado en Singapur sobre 796 individuos, se concluyó que la hiperhomocisteinemia se relacionaba de forma significativa con un declinar físico y funcional de los individuos (Ng TP, 2012), lo que pudiera justificar los resultados de nuestro estudio.

Ancho de distribución eritrocitario y mortalidad: En nuestro trabajo otro parámetro analítico que se relacionó con la mortalidad tras el alta hospitalaria fue el ancho de distribución eritrocitario (ADE). En los últimos años este biomarcador se ha postulado como un nuevo factor pronóstico de morbilidad (Patel KV, 2010). Varios autores han comunicado que el ADE se comporta como factor pronóstico de morbilidad tanto en individuos sanos (Horne BD, 2009; Perlstein TS, 2009; Patel KV, 2009; Zalawadiya SK, 2012) como en pacientes mayores ingresados y tras el alta hospitalaria (Martínez-Velilla N, 2012; Makhoul BF, 2013; Pérez-Martín A, 2013).

En algunos trabajos la capacidad pronóstica del ADE ha resultado ser superior a la de otros parámetros de laboratorio clásicamente relacionados con la mortalidad como la hemoglobina, la albúmina o la creatinina plasmática (Walter LC, 2001; Levine SK, 2007; Pérez-Martín A, 2013). Otros autores han demostrado que el ADE es un factor de morbilidad independiente (Patel KV, 2009; Förhécz Z, 2009; Veeranna V, 2013).

Patel et al. observaron inicialmente una asociación entre el ADE y los déficits nutricionales (hierro, folato y Vitamina B12), aunque en el caso de la deficiencia de Cobalamina no se observó un claro gradiente con los quintiles del ADE. Tras el ajuste de múltiples factores de confusión entre los que se incluyeron la edad, hemoglobina, proteína C reactiva y los déficits nutricionales previamente referidos los valores elevados de ADE se asociaron significativamente con un mayor riesgo de muerte (Patel KV, 2009). Veeranna y su grupo también encuentran asociación entre los déficits

nutricionales y el ADE y también tras ajuste de los factores de riesgo cardiovasculares habituales y los déficits nutricionales anteriormente referidos concluyen que el ADE constituye un factor predictor de muerte cardiovascular independiente (Veeranna V, 2013). Föhrécz y su grupo comprobaron que la asociación entre el ADE y la morbimortalidad fue independiente de múltiples factores que influyen en el aumento del ADE como la anemia y el estado nutricional (Föhrécz Z, 2009). Por su parte Martínez-Velilla y su grupo observaron que se mantenía de forma significativa la asociación ADE-mortalidad tras ajuste de sexo, edad, hemoglobina y creatinina plasmática (Martínez-Velilla N, 2012).

Esta asociación fue descrita inicialmente en pacientes con enfermedad cardiovascular, y especialmente en pacientes con insuficiencia cardiaca (Felker GM, 2007; Föhrécz Z, 2009, Al-Najjar Y, 2009; Van Kimmenade RR, 2010; Makhoul BF, 2013). Posteriormente, se han publicado otros trabajos que han descrito esta asociación en otras enfermedades cardiovasculares, como patología trombótica (Zorlu A, 2012) e incluso en procesos infecciosos agudos (Braun E, 2011). En varios de estos trabajos se observa que el aumento del riesgo de mortalidad está en consonancia con el aumento de ADE (Al-Najjar Y, 2009; Patel KV, 2009; Pérez-Martín A, 2013; Veeranna V, 2013).

Los mecanismos fisiopatológicos de esta asociación no son bien conocidos (Patel KV, 2009; Martínez-Velilla N, 2012; Pérez-Martín A, 2013; Veeranna V, 2013). El hecho de que no se trate de una molécula biológica hace más difícil encontrar una base fisiopatológica y las causas que motiven esta asociación (Pérez-Martín A, 2013).

Se ha propuesto que el ADE sería un marcador subrogado de estrés oxidativo e inflamación crónica ante la correlación observada en algunos estudios con biomarcadores como la interleucina-6, la proteína C reactiva o el factor de necrosis tumoral (Patel KV, 2009; Föhrécz Z, 2009; Lippi G, 2009; Semba RD, 2010; De Gonzalo-Calvo D, 2012). En este sentido, el ADE reflejaría una mezcla de mecanismos patogénicos subyacentes, considerando el eritrocito como un barómetro de la salud cardiovascular global (Pérez-Martín A, 2013).

Otro agente causal que se ha implicado en esta asociación es la eritropoyetina. En los procesos agudos ó a la agudización de enfermedades crónicas se producen defectos en

la maduración de los hematíes por disfunciones en la expresión y acción de la eritropoyetina mediado por citocinas proinflamatorias (Weiss G, 2005; Patel KV, 2009; Pérez-Martín A, 2013). Sin embargo, no parece que la anisocitosis por si misma sea un factor causal de riesgo de morbimortalidad (Martínez-Velilla N, 2012).

Por el momento tampoco se conoce si el riesgo de morbimortalidad asociado a la elevación del ADE es modificable (Martínez-Velilla N, 2012). No obstante, todavía la utilidad del ADE como factor pronóstico de morbimortalidad en la práctica clínica aún es escasa. La falta de conocimiento de su variabilidad biológica y la ausencia de consenso en cuanto a la determinación de sus puntos de corte pueden justificar el escaso valor clínico que tiene su consideración como factor pronóstico (Van Kimmenade RR, 2012).

En definitiva, hemos comprobado que el déficit de Vitamina B12, definido por el descenso de su concentración plasmática, que es la forma más utilizada, es frecuente en pacientes mayores hospitalizados, obteniéndose una prevalencia del 13%. En la literatura se objetiva una gran variabilidad de resultados en la prevalencia de déficit de Vitamina B12 según los distintos estudios revisados. En ello probablemente influyan factores como las diferencias socioeconómicas y culturales de los diferentes países, los grupos estudiados (población general, hospitalizados, pacientes ambulatorios...), los diferentes puntos de corte para establecer el déficit vitamínico utilizados y los criterios diagnósticos empleados. Nuestro resultado se encuadra dentro de los valores promedio observados con mayor frecuencia, alejándose de los estudios con prevalencias muy bajas y otros con prevalencias muy elevadas. Se observa que la prevalencia de déficit de Vitamina B12 aumenta con la edad, sin asociarse de forma significativa con el género.

En cuanto a la mutación C677T del gen de la enzima MTHFR y su relación con el déficit de Vitamina B12, se observó una tendencia en los pacientes con déficit vitamínico a presentar con mayor frecuencia *formas anómalas (CT y TT)*, aunque sin alcanzar la significación estadística. Tampoco observamos que los valores de Vitamina B12 difiriesen en función de los distintos polimorfismos. El déficit de Cobalamina se asoció a elevación de los niveles de homocisteína plasmática en la mayoría de los casos, sin embargo, los valores de homocisteína no fueron más elevados en los pacientes con las formas anómalas del gen de la MTHFR.

Por último, la mortalidad a largo plazo no se relaciona con el déficit de Vitamina B12. Sin embargo, los niveles elevados de Vitamina B12 si se han asociado a una mayor mortalidad tras el alta. Los valores elevados de homocisteína plasmática no se relacionaron con los antecedentes de patología cardiovascular, ni con la mortalidad pero si con los reingresos.

F. CONCLUSIONES

- 1.- La prevalencia de déficit de Vitamina B12 en pacientes mayores hospitalizados en Medicina Interna es del 13% (IC 95%: 9,5-16,8%) y se correlaciona directamente con la edad, sin presentar diferencias en función del género.
- 2.- En la revisión de la literatura efectuada la prevalencia de déficit de Vitamina B12 en pacientes hospitalizados varía entre el 3,7 y 63,4%, con un promedio del 14%, valor que asemeja al obtenido en nuestro estudio.
- 3.- En la mayoría de los casos el déficit vitamínico es leve, sin asociarse a las manifestaciones hematológicas y neurológicas clásicas. La etiología más frecuente es la gastritis atrófica.
- 4.- Tanto en el grupo de pacientes con déficit de Vitamina B12 como en el grupo control predominan las formas anómalas del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR, con una prevalencia del 60,3% y del 59% respectivamente. La forma anómala TT es más frecuente en los pacientes con déficit de Vitamina B12 (12,6%) que en el grupo control (7,7%), sin alcanzar la significación estadística.
- 5.- Los niveles plasmáticos de Vitamina B12 no varían en función de las diferentes formas del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR.
- 6.- La mayoría de los pacientes con déficit de Vitamina B12, el 79%, presenta hiperhomocisteinemia sin diferencias en función del sexo. La prevalencia de hiperhomocisteinemia en el grupo control es mucho menor, del 19,8%, predominando de forma significativa en los varones.
- 7.- En contra de lo esperado, en el grupo de pacientes con déficit de Vitamina B12 no se observan diferencias significativas en los valores de homocisteína en función de las distintas formas del polimorfismo C677T del gen de la enzima MTHFR. Sin embargo, en el grupo control, los portadores de la forma TT presentan una elevación significativa de homocisteína plasmática. Los niveles de homocisteína en plasma se correlacionan de forma inversa con los valores de Vitamina B12.

8.- La presencia de las distintas formas del polimorfismo C677T del gen de la enzima 5,10-MTHFR no se asocia a diferencias significativas entre los antecedentes personales, incluyendo enfermedades cardiovasculares o el motivo de ingreso, tampoco con la aparición de eventos cardiovasculares o la mortalidad. La hiperhomocisteinemia se asocia a los reingresos, pero no con la aparición de eventos cardiovasculares ni con la mortalidad.

9.- El déficit de Vitamina B12 no se asocia con la mortalidad hospitalaria o durante el seguimiento. Sin embargo, la elevación de los niveles de Vitamina B12 se asocia a una mayor mortalidad a largo plazo.

G. BIBLIOGRAFÍA

Aarts EO, Janssen IM, Berends FJ. The gastric sleeve: losing weight as fast as micronutrients?. *Obes Surg* 2011; 21 (2): 207-11.

Aarts EO, van Wageningen B, Janssen IM, Berends FJ. Prevalence of anemia and related deficiencies in the first year following laparoscopic gastric bypass for morbid Obesity. *J Obes* 2012; 2012: 193705. doi: 10.1155/2012/193705.

Abbate R, Sardi I, Pepe G, Marcucci R, Brunelli T, Prisco D. et al. The high prevalence of thermolabile 5-10 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) in italians is not associated to an increased risk for coronary artery disease (CAD). *Thromb Haemost* 1998; 79 (4): 727-30.

Abdollahi Z, Elmadfa I, Djazayeri A, Sadeghian S, Freisling H, Mazandarani FS et al. Folate, vitamin B12 and homocysteine status in women of childbearing age: baseline data of folic acid wheat flour fortification in Iran. *Ann Nutr Metab* 2008; 53 (2): 143-50.

Adams JF, Clark JS, Ireland JT, Kesson CM, Watson WS. Malabsorption of vitamin B12 and intrinsic factor secretion during biguanide therapy. *Diabetología* 1983; 24: 16–8.

Aguirre Errasti C. Reflexiones acerca del diagnóstico de la carencia de vitamina B12. *Med Clin (Barc)* 2001; 116: 457-58.

Aguirre Errasti C, Barreiro García, G; Cánovas Fernández, A; Priega López, R; Alonso Alonso, JJ. Diagnóstico del déficit de Vitamina B12. *JANO* 2002; 6 (1417): 45-48.

Aguirre Errasti C, Egurbide Arberas V, Martínez Berriotxo A. Present role of homocysteine in clinical medicine. *Med Clin (Barc)* 2009; 133 (12): 472-8.

Albers U, Palacios G, Pedrero-Chamizo R, Meléndez A, Pietrzik K, González-Gross M. Polymedication in institutionalized elderly and its effect on vitamin B12, folate, and homocysteine levels. *Nutr Hosp* 2012; 27 (1): 298-302.

Alderuccio F, Toh BH. Immunopathology of autoimmune gastritis: lessons from mouse models. *Histol Histopathol* 2000; 15 (3): 869-79.

Allain TJ, Gomo Z, Wilson Ao, Ndemera B, Adamchak DJ, Matenga A. Anaemia, macrocytosis, vitamin B12 and folate levels in elderly Zimbabweans. *Cent Afr J Med* 1997; 43 (11): 325-328.

Allen LH. Folate and vitamin B12 status in the Americas. *Nutr Rev* 2004; 62 (6 Pt 2): S29-33.

Allen LH. Causes of vitamin B12 and folate deficiency. *Food Nutr Bull* 2008; 29 (2 Suppl): S20-34; discussion S35-7.

Allen LH. How common is vitamin B12 deficiency?. *Am J Clin Nutr* 2009; 89 (suppl): 693S-696S.

Allen RH, Stabler SP, Savage DG, Lindenbaum J. Diagnosis of cobalamin deficiency I: usefulness of serum methylmalonic acid and total homocysteine concentrations. *Am J Hematol* 1990; 34 (2): 90-8.

Al-Najjar Y, Goode KM, Zhang J, Cleland JG, Clark AL. Red cell distribution width: An inexpensive and powerful prognostic marker in heart failure. *Eur J Heart Fail* 2009; 11: 1155–62.

Al-Tahan J, Sola R, Ruiz JR, Breidenassel C, García-Fuentes M, Moreno LA. Methylenetetrahydrofolate Reductase 677CT polymorphism and cobalamin, folate, and homocysteine status in Spanish adolescents. *Ann Nutr Metab* 2008; 52: 315-21.

American Diabetes Association (ADA). Standards of medical care in diabetes 2010. *Diabetes Care* 2010; 33 (Suppl 1): S11-61.

Andrade J, Juvuan J, Lukito W, Schultink W. Thiamine deficiency is prevalent in a selected group of urban Indonesian elderly people. *J Nutr* 1999; 129 (2): 366.

Andreassi MG, Botto N, Cocci F, Battaglia D, Antonioli E, Masetti S. et al. Methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism, homocysteine, vitamin B12, and DNA damage in coronary artery disease. *Hum Genet* 2003; 112 (2): 171-7.

Andrès E, Goichot B, Martinot M, Demangeat C, Grunenberger F, Schlienge JL. et al. Carence en vitamine B12 avec test de Schilling normal. *Rev Méd Interne* 1998; 19 (Suppl 1): 61S.

Andrès E, Perrin AE, Kraemer JP, Goichot B, Demangeat C, Ruellan A. et al. Anemia caused by vitamin B 12 deficiency in subjects aged over 75 years: new hypotheses. A study of 20 cases. *Rev Med Interne* 2000; 21 (11): 946-54.

Andrès E, Kurtz JE, Perrin AE, Maloisel F, Demangeat C, Goichot B. et al. Oral cobalamin therapy for the treatment of patients with food-cobalamin malabsorption. *Am J Med* 2001; 111 (2): 126-9.

Andrès E, Noël E, Kaltenbach G, Noblet-Dick M; Groupe d'étude des carences en vitamine B12 des Hôpitaux universitaires de Strasbourg. Vitamin B12 deficiencies in adults: current data. *Ann Biol Clin (Paris)* 2002; 60 (6): 744-5.

Andrès E, Noel E, Maloisel F. Hematological findings in patients with food-cobalamin malabsorption. *Am J Med* 2003; 115 (7): 592.

Andrès E, Noel E, Abdelghani MB. Vitamin B(12) deficiency associated with chronic acid suppression therapy. *Ann Pharmacother* 2003; 37 (11): 1730.

Andrès E, Perrin AE, Demangeat C, Kurtz JE, Vinzio S, Grunenberger F. et al. The syndrome of food-cobalamin malabsorption revisited in a department of internal medicine. A monocentric cohort study of 80 patients. *Eur J Intern Med* 2003; 14 (4): 221-226.

Andrès E, Noel E, Loukili NH, Kaltenbach G. Vitamin B12 deficiency in older adults. *Geriatrics* 2003; 58 (7): 12; author reply 12-3.

Andrès E, Loukili NH, Noel E, Kaltenbach G, Abdelgheni MB, Perrin AE.. Vitamin B12 deficiency in elderly patients. *Can Med Assoc J* 2004; 171 (3): 251-9.

Andrès E, Affenberger S, Vinzio S, Kurtz JE, Noel E, Kaltenbach G. et al. Food-cobalamin malabsorption in elderly patients: clinical manifestations and treatment. *Am J Med* 2005; 118 (10): 1154-9.

Andrès E, Affenberger S, Vinzio S, Noel E, Kaltenbach G, Schlienger JL. Cobalamin deficiencies in adults: update of etiologies, clinical manifestations and treatment. *Rev Med Interne* 2005; 26 (12): 938-46.

Andrès E, Affenberger S. Prevalence of vitamin B12 deficiency in patients with plasma cell dyscrasias. *Cancer* 2005; 104 (2): 439-40; author reply 440.

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* 2006; 28 (1): 50–56.

Andrès E, Blicklé F, Sordet C, Cohen-Solal J, Sibilia J, Sapin R.. Primary Sjögren's syndrome and vitamin B12 deficiency: preliminary results in 80 patients. *Am J Med* 2006; 119 (6): e9-10.

Andrès E, Federici L, Affenberger S, Vidal-Alaball J, Loukili NH, Zimmer J. et al. B12 deficiency: a look beyond pernicious anemia. *J Fam Pract* 2007; 56 (7): 537-42.

Andrès E, Federici L, K. Serraj, and G. Kaltenbach Update of nutrient-deficiency anemia in elderly patients. *Eur J Intern Med* 2008; 19 (7): 488-93.

Andrès E, Vogel T, Federici L, Zimmer J, Ciobanu E, Kaltenbach G. Cobalamin Deficiency in Elderly Patients: A Personal View. *Current Ger Geriatr Research* 2008. doi: 10.1155/2008/848267.

Andrès E, Mecili M. Oral vitamin B12 therapy. *Ann Surg Oncol* 2011; 18 Suppl 3: S196-8.

Andrès E. Anemia perniciosa y otras anemias megaloblásticas. *Current Therapy* 2012. pp 840-1.

Andrès E, Serraj K, Zhu J, Vermorken AJ. The pathophysiology of elevated vitamin B12 in clinical practice. *QJM* 2013; 106 (6):505-15. doi: 10.1093/qjmed/hct051.

Aparicio Vizuite A. Relación del estado nutricional y los hábitos alimentarios en la capacidad funcional, mental y afectiva de un colectivo de ancianos institucionalizados de la Comunidad de Madrid. Tesis doctoral. Facultad de Farmacia, Departamento de Nutrición y Bromatología I (Nutrición). Universidad Complutense de Madrid. 2005.

Aranceta J, Pérez C, Marzana I, Eguileor I, González de Galdeano L, Sáenz de Buruaga J. Encuesta nutricional de la Comunidad Autónoma Vasca. Tendencias en el consumo alimentario, indicadores bioquímicos y estado nutricional de la población adulta de la Comunidad Autónoma Vasca. Vitoria. Departamento de publicaciones Gobierno Vasco. 1994.

Arendt JF, Nexø E. Cobalamin related parameters and disease patterns in patients with increased serum cobalamin levels. *PLoS One* 2012; 7 (9): e45979. doi: 10.1371/journal.pone.0045979.

Arnaud J, Fleites-Mestre P, Chassagne M, Verdura T, Garcia Garcia I, Hernandez-Fernandez T et al. Vitamin B intake and status in healthy Havanan men, 2 years after the Cuban neuropathy epidemic. *Br J Nutr* 2001; 85 (6): 741-8.

Arora S, Singh B, Gupta VK, Vewnkatesan M. Burden of vitamin B12 deficiency in urban population in Delhi India: a hospital based study. *Int J Ph Bio Sciences* 2011; 2 (1): B521-8.

Aslan K, Bozdemir H, Unsal C, Güvenc B. The effect of antiepileptic drugs on vitamin B12 metabolism. *Int J Lab Hem* 2008; 30: 26–35.

Baik HW, Russel RM. Vitamin B12 deficiency in the elderly. *Annu Rev Nutr* 1999; 19: 357-77.

Bailey RL, Carmel R, Green R, Pfeiffer CH, Cogswell ME, Osterloh JD. et al. Monitoring of vitamin B-12 nutritional status in the United States by using plasma methylmalonic acid and serum vitamin B-12. *Am J Clin Nutr* 2011; 94 (2): 552–61.

Baker H, Frank O, DeAngelis B. Plasma vitamin B12 titres as indicators of disease severity and mortality of patients with alcoholic hepatitis. *Alcohol* 1987; 22 (1): 1–5.

Baker H, Leevy CB, DeAngelis B, Frank O, Baker ER. Cobalamin (vitamin B12) and holotranscobalamin changes in plasma and liver tissue in alcoholics with liver disease. *J Am Coll Nutr* 1998; 17 (3): 235-8.

Banegas JR, Rodriguez-Artalejo F, Graciani A, Graciani A, López-García E, Ruilope LM. Association between awareness, treatment, and control of hypertension, and quality of life among older adults in Spain. *Am J Hypertension* 2006; 19 (7): 686-693.

Ban-Hoefen M, Francis C. Heparin induced thrombocytopenia and thrombosis in a tertiary care hospital. *Thromb Res* 2009; 124 (2): 189-92.

Banka S, Ryan K, Thomson W, Newman WG. Pernicious anemia - genetic insights. *Autoimmun Rev* 2011; 10 (8): 455-9.

Barbé F, Klein M, Chango A, Frémont S, Gérard P, Weryha G. et al. Homocysteine, folate, vitamin B12, and transcobalamins in patients undergoing successive hypo- and hyperthyroid states. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86 (4): 1845-6.

Bartlett JM, White A. Extraction of DNA from whole blood. *Methods Mol Biol* 2003; 226: 29-32.

Barbosa PR, Stabler SP, Machado AL, Braga RC, Hirata RD, Hirata MH. et al. Association between decreased vitamin levels and MTHFR, MTR and MTRR gene polymorphisms as determinants for elevated total homocysteine concentrations in pregnant women. *Eur J Clin Nutr* 2008; 62 (8): 1010-21.

Barghouti FF, Younes NA, Halaseh LJ, Said TT, Ghariz SM. High frequency of low serum levels of vitamin 12 among patients Jordan University Hospital, East Mediterr Health J 2009; 15 (4): 853-60.

Battersby AR. How nature builds the pigments of life: the conquest of vitamin B12. Science 1994; 264 (5165): 1551-7.

Bauman WA, Shaw S, Jayatilleke E, Spungen AM, Herbert V. Increased intake of calcium reverses vitamin B12 malabsorption induced induced by metformin. Diabetes Care 2000; 23: 1227–31.

Baztán JJ, Gavidia JJ, Gómez-Pavón J, Esteve A, Ruipérez I. High vitamin B12 levels and in-hospital mortality. J Am Geriatr Soc 2010; 58 (11): 2237-8.

Bell IR, Edman JS, Marby DW, Satlin A, Dreier T, Liptzin B, Cole JO. Vitamin B12 and folate status in acute geropsychiatric inpatients: affective and cognitive characteristics of a vitamin nondeficient population. Biol Psychiatry 1990; 27 (2): 125-37.

Bennett M. Vitamin B12, infertility and recurrent fetal loss. J Reprod Med 2001; 46: 209-12.

Berg RL, Shaw GR. Laboratory evaluation for vitamin B12 deficiency: the case for cascade testing. Clin Med Res 2013; 11(1): 7-15.

Bermúdez M, Frank N, Bernal J, Urreizti R, Briceño I, Merinero B. et al. High prevalence of CBS p.T191M mutation in homocystinuric patients from Colombia. Hum Mutat 2006; 27 (3): 296.

Bernard MA, Nakonezny PA, Kashner TM. The effect of vitamin B12 deficiency on older veterans and its relationship to health. J Am Geriatr Soc 1998; 46 (10): 1199-206.

Bhaijee F, Jordan B, Pepper DJ, Leacock R, Rock WA Jr. Venous thrombosis with both heterozygous factor V Leiden (R507Q) and factor II (G20210A) mutations. *Clin Lab Sci* 2012; 25 (4): 199-205.

Bhargava S, Ali A, Manocha A, Kankra M, Das S, Srivastava LM. Homocysteine in occlusive vascular disease: a risk marker or risk factor. *Indian J Biochem Biophys* 2012; 49 (6): 414-20.

Biagi P, Fabbrini D, Bocchini S. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in a group of hospitalized geriatric patients. *Panminerva Med* 2000; 42 (3): 183-6.

Bjelland I, Tell GS, Vollset SE, Refsum H, Ueland PM. Folate, vitamin B12, homocysteine, and the MTHFR 677C-T polymorphism in anxiety and depression: The Hordaland Homocysteine Study. *Arch Gen Psychiatry* 2003; 60: 618–26.

Bjorkegren K, Svärdsudd K. Serum cobalamin, folate, methylmalonic acid and total homocysteine as vitamin B12 and folate tissue deficiency markers amongst elderly Swedes a population. *J Intern Med* 2001; 249 (5): 423-32.

Black AK, Allen LH, Peltz GH, de Mata MP, Chávez A et al. Iron, vitamin B-12 and folate status in Mexico: associated factors in men and women and during pregnancy and lactation. *J Nutr* 1994; 124 (8): 1179-88.

Blankenhorn K, Lipson D. Business watch: 2001 in review: despite economic challenges, pharmaceutical industry still maintains steady growth. *Med Mark Media* 2002; 37: 47–62.

Blundell EL, Matthews JH, Allen SM, Middleton AM, Morris JE, Wickramasinghe SN. Importance of low serum vitamin B12 and red cell folate concentrations in elderly hospital inpatients. *J Clin Pathol* 1985; 38 (10): 1179-84.

Blundo C, Marin D, Ricci M. Vitamin B12 deficiency associated with symptoms of frontotemporal dementia. *Neurol Sci* 2011; 32 (1): 101-5.

Boix Martínez R, Aragonés Sanz N, Medrano Albero MJ. Trends in mortality from ischemic heart disease in 50 Spanish provinces. *Rev Esp Cardiol* 2003; 56 (9): 850-6.

Borghoutti FF, Younes NA, Halaseh LJ, Said TT, Ghraiz SM. High frequency of low serum levels of vitamin 12 among patients attending Jordan University Hospital. *East Mediterr Health J* 2009; 15 (4): 853-60.

Bosco C, Favrat B, Cheseaux M. tamin B12 and iron deficiencies: from diagnostic to follow-up. *Rev Med Suisse* 2012; 8 (346): 1348-51.

Boston AG, Silbershatz H, Rosenberg IH, Selhub J, D'Agostino RB, Lobo PA. et al. Nonfasting plasma total homocysteine levels and all-cause and cardiovascular disease mortality in elderly Framingham men and women. *Arch Intern Med* 1999; 159 (10):1077–1080

Bottiglieri T. Folate, vitamin B12 and neuropsychiatric disorders. *Nutr Rev* 1996; 54 (12): 382-90.

Botto LD, Yang Q. 5,10–methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies. A huGE Review. *Am J Epidemiol* 2000; 151: 862–77.

Boulat O, Rey F, Mooser V. Biological markers for the status of vitamins B12 and D: the importance of some analytical aspects in relation to clinical interpretation of results. *Rev Med Suisse* 2012; 8 (360): 2052-4, 2056-8.

Braillard O, Casini A, Samii K, Rufenacht P, Junod PN. Vitamin B12 deficiency: what's new?. *Rev Med Suisse* 2012; 8 (355): 1805-10.

Brattström L, Lindgren A, Israelsson B, Andersson A, Hultberg B. Homocysteine and cysteine: determinants of plasma levels in middle-aged and elderly subjects. *J Intern Med* 1994; 236: 633-41

Brattström L, Wilcken DE, Ohrvik J, Brudin L. Common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation leads to hyperhomocysteinemia but not to vascular disease: the result of a meta-analysis. *Circulation* 1998; 98 (23): 2520-6.

Braun E, Domany E, Kenig Y, Mazor Y, Makhoul BF, Azzam ZS. Elevated red celldistribution width predicts poor outcome in young patients with community acquired pneumonia. *Crit Care* 2011; 15: R194.

Brett AS, Roberts MS. Screening for vitamin B12 deficiency in psychiatric patients. *J Gen Intern Med* 1994; 9 (9): 522-4.

Brito A, Hertrampf E, Olivares M, Gaitán D, Sánchez H, Allen LH, Uauy R. Folatos y Vitamina B12 en la salud humana. *Rev Med Chile* 2012; 140: 1464-75.

Brolin RE, Gorman RC, Milgrim LM, Kenler HA. Multivitamin prophylaxis in prevention of post-gastric bypass vitamin and mineral deficiencies. *Int J Obes* 1991; 15 (10): 661-7.

Brolin RE, Gorman JH, Gorman RC, Petschenik AJ, Bradley LJ, Kenler HA. et al. Are vitamin B12 and folate deficiency clinically important after roux-en-Y gastric bypass? *J Gastrointest Surg* 1998; 5: 436-42.

Brussaard JH, Löwik MR, van den Berg H, Brants HA, Kistemaker C. Micronutrient status, with special reference to vitamin B6. *Eur J Clin Nutr* 1997; 51 Suppl 3: S32-8.

Brustolin S, Giugliani R, Félix TM. Genetics of homocysteine metabolism and associated disorders. *Braz J Med Biol Res* 2010; 43 (1): 1-7.

Bryan RH. Are We Missing Vitamin B12 Deficiency in the Primary Care Setting? *JNP* 2010; 519-23.

Bunting RW, Bitzer AM, Kenney RM, Ellman L. Prevalence of intrinsic factor antibodies and vitamin B~malabsorption in older patients admitted to a rehabilitation hospital. *J Am Ger Soc* 1990; 38: 743-7.

Bunting RW, Pachas WN. Neutrophil hypersegmentation may unmask vitamin B12 deficiency in patients with normal serum B12 levels. *J Am Geriatr Soc* 1997; 45: 657-8.

Cabrera de León A, Rodríguez Pérez MC, Almeida González D, Domínguez Coello SP, Aguirre Jaime A, Brito Díaz B. et al. Presentation of the "CDC de Canarias" cohort: objectives, design and preliminary results. *Rev Esp Salud Publica* 2008; 82 (5): 519-34.

Calvo Romero JM, Ramiro L. Vitamina B(12) en pacientes diabéticos tipo 2 en tratamiento con metformina. *Endocrinol Nutr* 2012; 59 (8): 487-90.

Campbell AK, Miller JW, Green R, Haan MN, Allen LH. Plasma vitamin B-12 concentrations in an elderly latino population are predicted by serum gastrin concentrations and crystalline vitamin B-12 intake. *J Nutr* 2003; 133 (9): 2770-6.

Caplan RH, Davis K, Bengston B, Smith MJ. Serum folate and vitamin B12 levels in hypothyroid and hyperthyroid patients. *Arch Intern Med* 1975; 135 (5): 701-4.

Carmel R. Pernicious anemia. The expected findings of very low serum cobalamin levels, anemia, and macrocytosis. *Arch Intern Med* 1988; 148: 1712-4.

Carmel R. Malabsorption of food cobalamin. *Baillieres Clin Haematol* 1995; 8 (3): 639-55.

Carmel R. Prevalence of undiagnosed pernicious anemia in the elderly. *Arch Intern Med* 1996; 156 (10): 1097-100.

Carmel R. Cobalamin, the stomach, and aging. *Am J Clin Nutr* 1997; 66 (4): 750-9.

Carmel R. Mild cobalamin deficiency. *West J Med* 1998; 168 (6): 522-3.

Carmel R. Ethnic and racial factors in cobalamin metabolism and its disorders. *Semin Hematol* 1999; 36 (1): 88-100.

Carmel R. Mild cobalamin deficiency in older Dutch subjects. *Am J Clin Nutr* 1999; 69 (4):738-9.

Carmel R, Green R, Jacobsen DW, Rasmussen K, Florea M, Azen C. Serum cobalamin, homocysteine and methylmalonic acid concentrations in a multiethnic abnormalities. *Am J Clin Nutr* 1999; 70: 904-10.

Carmel R. Current concepts in cobalamin deficiency. *Ann Rev Med* 2000; 51: 357-75.

Carmel R, Vasireddy H, Aurangzeb I, George K. High serum cobalamin levels in the clinical setting--clinical associations and holo-transcobalamin changes. *Clin Lab Haematol* 2001; 23 (6): 365-71.

Carmel R, Green R, Rosenblatt DS, Watkins D. Update on cobalamin, folate, and homocysteine. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2003: 62-81.

Carmel R, Sarrai M. Diagnosis and management of clinical and subclinical cobalamin deficiency: advances and controversies. *Current Hematol Rep* 2006; 5 (1): 23–33.

Carmel R. The disappearance of cobalamin absorption testing: a critical diagnostic loss. *J Nutr* 2007; 137:2481-4.

Carmel R. Efficacy and safety of fortification and supplementation with vitamin B12: biochemical and physiological effects. *Food Nutr Bull* 2008; 29 (2 Suppl): S177-87.

Carmel R. Biomarkers of cobalamin (vitamin B-12) status in the epidemiologic setting: a critical overview of context, applications, and performance characteristics of cobalamin, methylmalonic acid, and holotranscobalamin II. *Am J Clin Nutr* 2011; 94 (1): 348S–58S.

Carvalho IR, Loscalzo IT, Freitas MF, Jordão RE, Friano TC. Incidence of vitamin B12 deficiency in patients submitted to Fobi-Capella Roux-en-Y bariatric surgery. *Arq Bras Cir Dig* 2012; 25 (1): 36-40.

Castañón MM, Lauirecella AM, Genoud V, Quintana IL. Importancia de la determinación de homocisteinemia y metilentetrahidrofolato reductasa C677T. *Act Bio Clin Lat* 2006; 40 (3): 11-16.

Cattan D. Pernicious anemia: what are the actual diagnosis criteria?. *World J Gastroenterol* 2011; 17 (4): 543-4.

Chango A, Boisson F, Barbé F, Quilliot D, Droesch S, Pfister M. et al. The effect of 677C → T and 1298A → C mutations on plasma homocysteine and 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase activity in healthy subjects. *Br J Nutr* 2000; 84 (6): 593-6.

Chango A, Potier De Courcy G, Boisson F, Guillard JC, Barbé F, Perrin MO. et al. 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase common mutations, folate status and plasma homocysteine in healthy French adults of the Supplementation en Vitamines et Mineraux Antioxydants (SU.VI.MAX) cohort. *Br J Nutr* 2000; 84 (6): 891-6.

Charlton KE, Kruger M, Labadarios D, Wolmarans P, Aronson I. Iron, folate and vitamin B12 status of an elderly South African population. *Eur J Clin Nutr* 1997; 51 (7): 424-30.

Chatthanawaree W. Biomarkers of cobalamin (vitamin B12) deficiency and its application. *J Nutr Health Aging* 2011; 15 (3): 227-31.

Chavez L, Solazar L, Herrmann AB. Estudio de factores trombogénicos en pacientes menores de 45 años con infarto del miocardio. *Rev. Costarric Cardiol*, San José 2002, 4 (3). Disponible en: www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-41422002000300002&lng=es&nrm=iso. Ultimo acceso 27 julio de 2013.

Chen KJ, Pan WH, Yang FL, Wei IL, Shaw NS, Lin BF. Association of B vitamins status and homocysteine levels in elderly Taiwanese. *Asia Pac J Clin Nutr* 2005; 14 (3): 250-5.

Chiche L, Mancini J, Arlet JB. BDOSE study investigators. Indications for cobalamin levels assessment in departments of internal medicine: a prospective practice survey. *Postgrad Med J* 2013; 89: 560-5.

Chichizola C, Ludueña B, Mastandrea C, Sánchez H. El valor diagnóstico de la homocisteína. Utilidad clínica. *Rev Arg End Metab* 2003; 40 (1): 32-42.

Chui CH, Lau FY, Wong R, Soo OY, Lam CK, Lee PW. et al. Vitamin B12 deficiency need for a new guideline. *Nutr* 2001; 17 (11-12): 917-20.

Chung SL, Chiou KR, Charng MJ. 677TT polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase in combination with low serum vitamin B12 is associated with coronary in-stent restenosis. *Catheter Cardiovasc Interv* 2006; 67 (3): 349-55.

Clarke R, Refsum H, Birks J, Evans G, Johnston C, Sherliker P. et al. Screening for vitamin B12 and folate deficiency in older persons. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 1241-7.

Clarke R, Grimley Evans J, Schneede J. Vitamin B12 and folate deficiency in later life. *Age Aging* 2004; 33: 34-41.

Clarke R, Sherliker P, Hin H, Nexø E, Hvas AM, Schneede J. et al. Detection of vitamin B12 deficiency in older people by measuring vitamin B12 or the active fraction of vitamin B12, holotranscobalamin. *Clin Chem* 2007; 53 (5): 963-70.

Coppedè F, Migheli F, Bargagna S, Siciliano G, Antonucci I, Stuppia L. et al. Association of maternal polymorphisms in folate metabolizing genes with chromosome damage and risk of Down syndrome offspring. *Neurosci Lett* 2009; 449 (1): 15-9.

Coppola A, Davi G, De Stefano V, Mancini FP, Cerbone AM, Di Minno G. Homocysteine, coagulation, platelet function and thrombosis. *Semin Thromb Hemost* 2000; 26 (3): 243-54.

Corcoran TB, O'Neill MA, Webb SAR, HO KM. Prevalence of vitamin deficiencies on admission: relationship to hospital mortality in critically ill patients. *Anaesth Intensive Care* 2009; 37: 254-60.

Cordain L, Hickey MS. Ultraviolet radiation represents an evolutionary selective pressure for the south-to-north gradient of the MTHFR 677TT genotype. *Am J Clin Nutr* 2006; 84 (5): 1243.

Cortese C, Motti C. MTHFR gene polymorphism, homocysteine and cardiovascular disease. *Public Health Nutr* 2001; 4 (2B): 493-7.

Cotter PE, O'Keeffe ST. Use of proton pump inhibitors is not associated with vitamin B12 deficiency and in older hospital patients: A case control study. *Eu Geriatr Med* 2011; 2: 253-255.

Coull DB, Tait RC, Anderson JH, McKee RF, Finlay IG. Vitamin B12 deficiency following restorative proctocolectomy. *Colorectal Dis* 2007; 9 (6): 562-6.

Cuskelly GJ, Mooney KM, Young IS. Folate and vitamin B12: friendly or enemy nutrients for the elderly. *Proc Nutr Soc* 2007; 66 (4): 548-58.

D'Angelo A, Coppola A, Madonna P, Fermo I, Pagano A, Mazzola G. et al. The role of vitamin B12 in fasting hyperhomocysteinemia and its interaction with the homozygous C677T mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene. A case-control study of patients with early-onset thrombotic events. *Thromb Haemost* 2000; 83 (4): 563-70.

Dahele A, Ghosh S. Vitamin B12 deficiency in untreated celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2001; 96 (3): 745-50.

Dali-Youcef N, Andrès E. An update on cobalamin deficiency in adults. *QJM* 2009, 102: 17-28.

Damelan K, Kom A, Kossivi A, Koffi BA, Emile Ak, Kodjo GE. Hyperhomocysteinemia among ischemic stroke victims in the teaching hospital of Lomé. *Ann Biol Clin (Paris)* 2010; 68 (6): 669-73.

Dan GA, Dan AR, Buzea AC, Dobranici M, Popescu R, Gutu C. et al. Abstract 20009: Vitamin B12 deficiency in patients with heart failure and iron-deficiency anemia. *Circulation* 2010; 122 (21_MeetingAbstracts) Supplement 1.

Dangour AD, Breeze E, Clarke R, Shetty PS, Uauy R, Fletcher AE. Plasma homocysteine, but not folate or vitamin B-12, predicts mortality in older people in the United Kingdom. *J Nutr* 2008; 138 (6): 1121-8.

Dastur DK, Dave UP. Effect of prolonged anticonvulsant medication in epileptic patients: serum lipids, vitamins B6, B12, and folic acid, proteins, and fine structure of liver. *Epilepsia* 1987; 28: 147–159.

de Carvalho MJ, Guillard JC, Moreau D, Boggio V, Fuchs F. Vitamin status of healthy subjects in Burgundy (France). *Ann Nutr Metab* 1996; 40 (1): 24-51.

de Gonzalo-Calvo D, de Luxán-Delgado B, Rodríguez-González S, García-Macia M, Suárez FM, Solano JJ, et al. Interleukin 6, soluble tumor necrosis factor receptor I and red blood cell distribution width as biological markers of functional dependence in an elderly population: A translational approach. *Cytokine* 2012; 58:193–8.

de Gonzalo-Calvo D, de Luxán-Delgado B, Martínez-Camblor P, Rodríguez-González S, García-Macia M, Suárez FM. et al. Chronic inflammation as predictor of 1-year hospitalization and mortality in elderly population. *Eur J Clin Invest* 2012; 42: 1037–46.

de Jager J, Kooy A, Lehert P, Wulffele' MG, van der Kolk J, Bets D. et al. Long term treatment with metformin in patients with type 2 diabetes and risk of vitamin B-12 deficiency: randomised placebo controlled trial. *BMJ* 2010; 340: c2181.

de Jong N, Green TJ, Skeaff CM, Gibson RS, McKenzie JE, Ferguson EL. et al. Vitamin B12 and folate status of older New Zealand women. *Asia Pac J Clin Nutr* 2003; 12 (1): 85-91.

de la Vega MJ, Santolaria F, González-Reimers E, Alemán MR, Milena A, Martínez-Riera A. High prevalence of hyperhomocysteinemia in chronic alcoholism: the importance of the thermolabile form of the enzyme methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Alcohol* 2001; 25: 59–67.

De Paz R, Canales MA, Hernández-Navarro F. Anemia megaloblástica. *Med Clin* 2006; 125 (5): 185-8.

de Ruijter W, Westendorp RG, Assendelft WJ, den Elzen WP, de Craen AJ, le Cessie S. et al. Use of Framingham risk score and new biomarkers to predict cardiovascular mortality in older people: population based observational cohort study. *BMJ* 2009; 338: a3083. doi: 10.1136/bmj.a3083.

den Elzen WPJ, Groeneveld Y, De Ruijter W, Souverijn, Le Cessie S, Assendelft WJ. et al. Long-term use of proton pump inhibitors and vitamin B12 status in elderly individuals. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 27: 491-497.

den Heijer M, Lewington S, Clarke R. Homocysteine, MTHFR and risk of venous thrombosis: a meta-analysis of published epidemiological studies. *J Thromb Haemost* 2005; 3 (2): 292-9.

Dharmarajan TS, Ugalino JT, Kanagala M, Pitchumoni S, Norkus EP. Vitamin B12 status in hospitalized elderly from nursing homes and the community. *J Am Med Dir Assoc* 2000; 1 (1): 21-4.

Dharmarajan TS, Norkus EP. Approaches to vitamin B12 deficiency. Early treatment may prevent devastating complications. *Postgrad Med* 2001; 110 (1): 99-105.

Dharmarajan TS, Adiga GU, Norkus EP. Vitamin B12 deficiency: recognizing subtle symptoms in older adults. *Geriatrics* 2003; 58: 30–38.

Dhonukshe-Rutten RA, Lips M, de Jong N, Chin A Paw MJ, Hiddink GJ, van Dusseldorp M. et al. Vitamin B-12 status is associated with bone mineral content and bone mineral density in frail elderly women but not in men. *J Nutr* 2003; 133 (3): 801-7.

Dilley A, Hooper WC, El-Jamil M, Renshaw M, Wenger NK, Evatt BL. Mutations in the genes regulating methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR C → T677) and cystathione beta-synthase (CBS G → A919, CBS T → C833) are not associated with myocardial infarction in African Americans. *Thromb Res* 2001; 103 (2): 109-15.

Dimopoulos N, Piperi C, Salonicioti A, Psarra V, Gazi F, Nounopoulos C. et al. Association of cognitive impairment with plasma levels of folate, vitamin B12 and homocysteine in the elderly. *In Vivo* 2006; 20 (6B): 895-9.

Dimopoulos N, Piperi C, Salonicioti A, Psarra V, Gazi F, Papadimitriou A. et al. Correlation of folate, vitamin B12 and homocysteine plasma levels with depression in an elderly Greek population. *Clin Biochem* 2007; 40 (9-10): 604-8.

Dogan M, Ariyuca S, Peker E, Akbayran S, Dogan SZ, Ozdemir O. et al. Psychotic disorder, hypertension and seizures associated with vitamin B12 deficiency: a case report. *Hum Exp Toxicol* 2012; 31 (4): 410-3.

Dzieniszewski J, Jarosz M, Szczygiel B, Dlugosz J, Marlicz K, Linke K. et al. Nutritional status of patients hospitalised in Poland. *Eur J Clin Nutr* 2005; 59 (4): 552-60.

Ebbing M, Bønaa KH, Nygård O, Arnesen E, Ueland PM, Nordrehaug JE. et al. Cancer incidence and mortality after treatment with folic acid and vitamin B12. *JAMA* 2009; 302: 2119–2126.

Ebule IA, Longdoh AN, Paloheimo IL. *Helicobacter pylori* infection and atrophic gastritis. *African Health Sciences* 2013; 13 (1): 111-7.

Eftychiou C, Antoniadou L, Makri L, Koumas L, Costeas PA, Kyriakou E. et al. Homocysteine levels and MTHFR polymorphisms in young patients with acute myocardial infarction: a case control study. *Hellenic J Cardiol* 2012; 53 (3): 189-94.

Elmadfa I, Singer I. Vitamin B-12 and homocysteine status among vegetarians: a global perspective. *Am J Clin Nutr* 2009; 89 (5): 1693S-1698S.

Erdogan MO, Yildiz SH, Solak M, Eser O, Cosar E, Eser B. et al. C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene does not affect folic acid, vitamin B12, and homocysteine serum levels in Turkish children with neural tube defects. *Genet Mol Res* 2010; 9 (2): 1197-203.

Ermens AA, Vlasveld LT, Lindemans J. Significance of elevated cobalamin (vitamin B12) levels in blood. *Clin Biochem* 2003; 36: 585-90.

Evatt ML. Vitamin B12 deficiency: detection and diagnosis. Why vitamin B12 deficiency should be on your radar screen?. Disponible en: www.cdc.gov/ncbddd/b12/detection.html. Ultimo acceso 27 de octubre de 2013.

Evers S, Koch HG, Grotemeyer KH, Lange B, Deufel T, Ringelstein EB. Features, symptoms, and neurophysiological findings in stroke associated with hyperhomocysteinemia. *Arch Neurol* 1997; 54 (10): 1276-82.

Fabian E, Bogner M, Kicking A, Wagner KH, Elmadfa I. Vitamin status in elderly people in relation to the use of nutritional supplements. *J Nutr Health Aging* 2012; 16 (3): 206-12.

Fakhrzadeh H, Ghotbi S, Pourebrahim R, Nouri M, Heshmat R. Total plasma homocysteine, folate, and vitamin B12 status in healthy Iranian adults: the Tehran homocysteine survey (2003-2004)/a cross-sectional population based study. *BMC Public Health* 2006; 6: 29-36.

Fata FT, Herzlich BC, Schiffman G, Ast AL. Impaired antibody responses to pneumococcal polysaccharide in elderly patients with low serum vitamin B12 levels. *Ann Intern Med* 1996; 124: 299-304.

Fenech M, Aitken C, Rinaldi J. Folate, vitamin B12, homocysteine status and DNA damage in young Australian adults. *Carcinogenesis* 1998; 19 (7): 1163-71.

Felker GM, Allen LA, Pocock SJ, Shaw LK, McMurray JJ, Pfeffer MA, et al. Red cell distribution width as a novel prognostic marker in heart failure: Data from the CHARM Program and the Duke Databank. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50: 40–7.

Ferrazzi P, Di Micco P, Quaglia I, Rossi LS, Bellatorre AG, Gaspari G. et al. Homocysteine, MTHFR C677T gene polymorphism, folic acid and vitamin B 12 in patients with retinal vein occlusion. *Thromb J* 2005; 3: 13.

Figlin E, Chetrit A, Shahar A, Shpilberg O, Zivelin A, Rosenberg N. et al. High prevalences of vitamin B12 and folic acid deficiency in elderly subjects in Israel. *Br J Haematol* 2003; 123: 696-701.

Flicker LA, Vasikaran SD, Thomas J, Acres JG, Norman PE, Jamrozik K. et al. Homocysteine and vitamin status in older people in Perth. *Med J Aust* 2004; 180 (10): 539-40.

Flood VM, Smith WT, Webb KL, Rochtchina E, Anderson VE, Mitchell P. Prevalence of low serum folate and vitamin B12 in an older Australian population. *Aust N Z J Public Health* 2006; 30 (1): 38-41.

Fora MA, Mohammad MA. High frequency of suboptimal serum vitamin B12 level in adults in Jordan. *Saudi Med J* 2005; 26 (10): 1591-5.

Ford HC, Carter JM, Rendle MA. Serum and red cell folate and serum vitamin B12 levels in hyperthyroidism. *Am J Hematol* 1989; 31 (4): 233-6.

FörhécZ Z, Gombos T, Borgulya G, Pozsonyi Z, Prohaszka Z, Janoskúti L. Red cell distribution width in heart failure: Prediction of clinical events and relationship with markers of ineffective erythropoiesis, inflammation, renal function, and nutritional state. *Am Heart J* 2009; 158: 659–66.

Forrellat Barrios M, Gomis Hernández I, Gautier du Défaix Gómez H. Vitamina B12: metabolismo y aspectos clínicos de su deficiencia. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 1999; 15 (3): 159-74.

Fragasso A, Mannarella C, Ciancio A, Sacco A. Functional vitamin b12 deficiency in alcoholics: An intriguing finding in a retrospective study of megaloblastic anemic patients. *Eu J Int Medicine* 2010; 21: 97-100.

Fragasso A, Mannarella C, A Ciancio, Scarciolla O, Nuzzolese N, Clemente R. et al. Holotranscobalamin is a useful marker of vitamin B12 deficiency in alcoholics. *Scientific World Journal* 2012; doi: 10.1100/2012/128182.

Frank P, Crookes PF. Short- and long-term surgical follow-up of the postbariatric surgery patient. *Gastroenterol Clin North Am* 2010; 39 (1): 135-46.

Friso S, Choi SW, Girelli D, Mason JB, Dolnikowski GG, Bagley PJ. et al. A common mutation in the 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase gene affects genomic DNA methylation through an interaction with folate status. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99 (8): 5606-11.

Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG. et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995; 10 (1): 111-3.

Gaches F, Sauvage P, Vidal E, Berdah JF, Buia JM, Charmes JP. Multiple autoimmune syndrome. *Rev Med Interne* 1993; 14 (3): 177-8.

Gamble MV, Ahsan H, Liu X, Factor-Litvak P, Ilievski V, Slavkovich V. et al. Folate and cobalamin deficiencies and hyperhomocysteinemia in Bangladesh. *Am J Clin Nutr* 2005; 81 (6): 1372-7.

Gammon CS, von Hurst PR, Coad J, Kruger R, Stonehouse W. Vegetarianism, vitamin B12 status and insulin resistance in a group of predominantly overweight/obese South Asian women. *Nutrition* 2012; 28 (1): 20-24.

Ganji V, Kafai MR. Demographic, health, lifestyle, and blood vitamin determinants of serum total homocysteine concentrations in the third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–1994. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 826–33.

García Closas R, Serra Majem L, Sabater Sales G, Olmos M, Ribas Barba L, Salleras Sanmartí L. Distribution of the serum concentration of vitamin C, folic acid and vitamin B12 in a representative sample of the adult population of Catalonia (Spain). *Med Clin (Barc)* 2002; 118 (4): 135-41.

García Hernández MC, Romero Casanova A, Marco Vera P. Clinical comments on genetic marker prevalence (factor V Leiden, prothrombin 20210A and homozygous methylenetetrahydrofolate reductase form Ho-MTHFR): based on a study conducted in Health Department No. 19 of the Valencian Community. *Rev Clin Esp* 2007; 207 (1): 26-8.

García Pinilla JM. Hiperhomocisteinemia, polimorfismos genéticos y síndrome coronario agudo. Tesis doctoral. Facultad de Medicina. Departamento de Medicina Bioquímica, Biología molecular y Química orgánica. Universidad de Málaga. 2005.

García-Carrasco M, Jiménez-Hernández M, Mendoza-Pinto C, Ruiz-Argüelles A, Fuentes-Alexandro S. In: Pernicious anemia. Diagnostic Criteria in Autoimmune Diseases 2008: 513-7.

García-Robles R, Ayala-Ramírez PA, Villegas VE, Salazar M, Bernal J, Núñez F. et al. Estudio del polimorfismo MTHFR C677T en recién nacidos con cardiopatías

congénitas aisladas, en una población colombiana. Univ Méd Bogotá (Colombia) 2011, 52 (3): 269-277.

Garritz A. La Química de la segunda mitad del siglo XX. Educ Quim 1999; 10 (1): 13-24.

Gauchan D, Joshi N, Gill AS, Patel V, Debari VA, Guron G, Maroules M. Does an elevated serum vitamin B(12) level mask actual vitamin B(12) deficiency in myeloproliferative disorders?. Clin Lymphoma Myeloma Leuk 2012; 12 (4): 269-73.

Geissbühler P, Mermillod B, Rapin CH. Elevated serum vitamin B12 levels associated with CRP as a predictive factor of mortality in palliative care cancer patients: a prospective study over five years. J Pain Symptom Manage 2000; 20 (2): 93-103.

Gellekink H, den Heijer M, Heil SG, Blom HJ. Genetic determinants of plasma total homocysteine. Semin Vasc Med 2005; 5 (2): 98-109.

Gielchinsky Y, Elstein D, Green R, Miller JW, Elstein Y, Algur N. et al. High prevalence of low serum vitamin B12 in a multi-ethnic Israeli population. Br J Haematol 2001; 115 (3): 707-709.

Gil Díaz A, Conde Martel A, Alonso Ortiz B, Arkuch Saade ME. Prevalence of vitamin B12 deficiency in patients with iron-deficiency anemia referred for evaluation in Internal Medicine. Med Clin (Barc) 2013. pii: S0025-7753(13)00209-1.

Gil Prieto R, Esteban Hernández J, Hernández Barrera V, Cano B, de Oya M, Gil de Miguel A. Serum vitamin B12 levels in an adolescent population in Madrid. An Pediatr (Barc) 2008; 68 (5): 474-480.

Gil-Prieto R, Hernández V, Cano B, Oya M, Gil A. Plasma homocysteine in adolescents depends on the interaction between methylenetetrahydrofolate reductase genotype, lipids and folate: a seroepidemiological study. Nutr Metab (Lond) 2009; 6: 39. doi: 10.1186/1743-7075-6-39.

Gilting AM, Crowe FL, Lloyd-Wright Z, Sanders TA, Appleby PN, Allen NE. et al. Serum concentrations of vitamin B12 and folate in British male omnivores, vegetarians, and vegans: results from a cross sectional analysis of the EPIC-Oxford cohort study. *Eur J Clin Nutr* 2010; 64 (9): 933–939. doi: 10.1038/ejcn.2010.142.

Gimsing P, Petersen CO, Hippe E. The cobalamin and cobalamin binding proteins in plasma related to the clinical condition in chronic myelogenous leukemia. *Leukemia* 1995; 9:1604-9.

Girelli D, Friso S, Trabetti E, Olivieri O, Russo C, Pessotto R. et al. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutation, plasma homocysteine, and folate in subjects from northern Italy with or without angiographically documented severe coronary atherosclerotic disease: evidence for an important genetic-environmental interaction. *Blood* 1998; 91 (11): 4158-63.

Gisbert JP, Calvet X, Bermejo F, Boixeda D, Bory F, Bujanda L. et al. III Consenso Español Conferencia sobre la infección por *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Hepatol* 2013; 36 (5): 340-74.

Glusker JP. Dorothy Crowfoot Hodgkin (1910-1994). *Protein Sci* 1994; 3 (12): 2465-9.

Godfrey PO, Tulchinsky TH. Folic Acid and Vitamin B12 Fortification of Flour: A Global Basic Food Security Requirement. *Pub Health Rev* 2010; 32 (1): 284-295.

Goebels N, Soyka M. Dementia associated with vitamin B(12) deficiency: presentation of two cases and review of the literature. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 2000; 12 (3): 389-94.

Gohil R, Peck G, Sharma P. The genetics of venous thromboembolism. A meta-analysis involving approximately 120,000 cases and 180,000 controls. *Thromb Haemost* 2009; 102 (2): 360-70.

Goland S, Ayzenberg O, Kuznitz F, Shimoni S, Caspi A, Malnick S. A high incidence of Vitamin B12 deficiency in Israeli patients undergoing coronary angiography. *Cardiovasc Drugs Ther* 2003; 17 (2): 191.

González-Clemente JM, Galdón G, Mitjavila J, Mauricio D. Valores séricos de vitamina B12 en pacientes ancianos atendidos ambulatoriamente. *Med Clin (Barc)* 2002; 119 (12): 475-9.

González Gross M, Sola R, Albers U, Barrios L, Alder M, Castillo MJ. et al. B-vitamins and homocysteine in Spanish institutionalized elderly. *Int J Vitam Nutr Res* 2007; 77 (1): 22-33.

González Martín-Moro B, Pérez B, Santiuste Puente C, Desviat LR, Ugarte M, Pérez ML. et al. Estudio del polimorfismo C677T del gen MTHFR y las concentraciones plasmáticas de homocisteína. *Quím Clín* 2005; 24 (1): 41-5.

González-Porras JR, Martín-Herrero F, García-Sanz R, López ML, Balanzategui A, Mateos MV. et al. Hyperhomocysteinemia is a risk factor of recurrent coronary event in young patients irrespective to the MTHFR C677T polymorphism. *Thromb Res* 2007; 119 (6): 691-8.

González S, Huerta JM, Fernández S, Patterson AM, Lasheras C. Homocysteine increases the risk of mortality in elderly individuals. *Br J Nutr* 2007; 97 (6): 1138-43.

Gopinath B, Flood VM, Rohtchina E, Thiagalingam A, Mitchell P. Serum homocysteine and folate but not vitamin B12 are predictors of CHD mortality in older adults. *Eur J Prev Cardiol* 2012; 19 (6):1420-9. doi: 10.1177/1741826711424568.

Goyette P, Pai A, Milos R, Frosst P, Tran P, Chen Z. et al. Gene structure of human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Mamm Genome* 1998; 9 (8): 652-6.

Gray A, McMillan DC, Wilson C, Williamson C, O'Reilly DS, Talwar D. The relationship between plasma and red cell concentrations of vitamins thiamine

diphosphate, flavin adenine dinucleotide and pyridoxal 5-phosphate following elective knee arthroplasty. Clin Nutr 2004; 23 (5): 1080-3.

Green R, Miller JW. Vitamin B12 deficiency is the dominant nutritional cause of hyperhomocysteinemia in a folic acid-fortified population. Clin Chem Lab Med 2005; 43 (10):1048-51.

Green R. Is it time for vitamin-B12 fortification?. What are the questions? Am J Clin Nutr 2009; 89: 712S-716S.

Green TJ, Venn BJ, Skeaff CM, Williams SM. Serum vitamin B12 concentrations and atrophic gastritis in older New Zealanders. Eur J Clin Nutr 2005; 59 (2): 205-10.

Gulden KD. Pernicious anemia, vitiligo and infertility. J Am Board Fam Pract 1990; 3: 217-220.

Gulvady C, Pingle S, Shanbhag S. Incidence of vitamin B12/D3 deficiency among company executives. Indian J Occup Environ Med 2007; 11 (2): 83-5.

Gümürdülü Y, Serin E, Ozer B, Kayaselçuk F, Kul K, Pata C. et al. Predictors of vitamin B12 deficiency: age and Helicobacter pylori load of antral mucosa. Turk J Gastroenterol 2003; 14 (1): 44-9.

Haller J, Löwik MR, Ferry M, Ferro-Luzzi A. Nutritional status: blood vitamins A, E, B6, B12, folic acid and carotene. Euronut SENECA investigators. Eur J Clin Nutr 1991; 45 Suppl 3: 63-82.

Halsted CH. B-Vitamin dependent methionine metabolism and alcoholic liver disease. Clin Chem Lab Med 2013; 51 (3): 457-65.

Hambaba L, Abdessemed S, Yahia M, Laroui S, Rouabah F. Relationship between hyperhomocysteinemia and C677T polymorphism of methylene tetrahydrofolate reductase gene in a healthy Algerian population. Ann Biol Clin (Paris) 2008; 66 (6):637-41.

Hamborg B, Kittang E, Schjonsby H. The effect of ranitidine on the absorption of food cobalamins. *Scand J Gastroenterol* 1985; 20: 756–8.

Hanger HC, Sainsbury R, Gilchrist NL, Beard ME, Duncan JM. A community study of vitamin B12 and folate levels in the elderly. *J Am Geriatr Soc* 1991; 39 (12): 1155-9.

Hankey GJ, Eikelboom JW. Homocysteine and vascular disease. *Lancet* 1999; 354 (9176): 407-13.

Hankey GJ, Eikelboom JW, Loh K, Yi Q, Pizzi J, Tang M. et al. Is there really a power shortage in clinical trials testing the "homocysteine hypothesis?". *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24 (8): e147.

Hankey GJ, Eikelboom JW, Ho WK, van Bockxmeer FM. Clinical usefulness of plasma homocysteine in vascular disease. *Med J Aust* 2004; 181 (6): 314-8.

Hao L, Ma J, Zhu J, Stampfer MJ, Tian Y, Willett WC. et al. Vitamin B12 deficiency is prevalent in 35- to 64-year-old Chinese adults. *J Nutr* 2007; 137 (5): 1278-85.

Haynes WG, Hyperhomocysteinemia, vascular function and atherosclerosis: effects of vitamins. *Cardiovasc Drugs Ther* 2002; 16 (5): 391-9.

Headstrom PD, Rulyak SJ, Lee SD. Prevalence of and risk factors for vitamin B(12) deficiency in patients with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14 (2): 217-23.

Healton EB, Salvaje DG , Brust JC , Garrett TJ , Lindenbaum J .Neurologic aspects of cobalamin deficiency. *Med (Baltimore)* 1991; 70: 229-245.

Hemmersbach-Miller M, Conde-Martel A, Betancor-León P. Vitamin B as a predictor of mortality in elderly patients. *J Am Geriatr Soc* 2005; 53 (11): 2035-6.

Henning BF, Riezler R, Tepel M, Langer K, Raidt H, Graefe U. et al. Evidence of altered homocysteine metabolism in chronic renal failure. *Nephron* 1999; 83 (4): 314-22.

Henríquez P, Doreste J, Deulofeu R, Fiuza MD, Serra-Majem L. Nutritional determinants of plasma total homocysteine distribution in the Canary Islands. *Eur J Clin Nutr* 2007; 61 (1): 111-8.

Henríquez Sánchez P, Díaz Romero C, Rodríguez Rodríguez E, López Blanco F, Álvarez León E, Díaz Cremádes J. et al. Biochemical assessment of nutritional status in the Canary Islands population (1998). *Arch Latinoam Nutr* 2000; 50 (1 Suppl 1): 43-54.

Heppner HJ, Bauer JM, Sieber CC, Bertsch T. Laboratory Aspects Relating to the Detection and Prevention of Frailty. *Int J Prev Med* 2010; 1(3): 149–157.

Herbert V. Vitamin B-12 and elderly people. *Am J Clin Nutr* 1994; 59 (5 Suppl): 1093-5.

Herbert V. Staging vitamin B-12 (cobalamin) status in vegetarians. *Am J Clin Nutr* 1994; 59 (5 Suppl): 1213S-22S.

Herbert V. Underreporting of dietary supplements to health-care providers does great harm. *Mayo Clin Proc* 1999; 74 (5): 531-2.

Hernaez F, Yeung E, Clark JM, Kowdley KV, Brancati FL, Kao WH. Hemochromatosis gene and nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *J Hepatol* 2011; 55 (5): 1079-85.

Hernández Rodríguez M. Tratado de nutrición 1999. Pp 170.

Herrmann W, Schorr H, Obeid R, Geisel J. Vitamin B-12 status, particularly holotranscobalamin II and methylmalonic acid concentrations, and hyperhomocysteinemia in vegetarians. *Am J Clin Nutr* 2003; 78 (1): 131-6.

Herrmann W, Obeid R, Schorr H, Geisel J. The usefulness of holotranscobalamin in predicting vitamin B12 status in different clinical settings. *Curr Drug Metab* 2005; 6 (1): 47-53.

Herrmann W, Obeid R. Causes and Early Diagnosis of Vitamin B12 Deficiency. *Dtsch Arztebl Int* 2008; 150 (40): 680-5.

Herrmann W, Obeid R. Cobalamin deficiency. *Subcell Biochem* 2012; 56: 301-22.

Herrmann W, Obeid R. Utility and limitations of biochemical markers of vitamin B12 deficiency. *Eur J Clin Invest* 2013; 43 (3): 231-7.

Hershko C, Hoffbrand AV, Keret D, Souroujon M, Maschler I, Monselise Y. et al. Role of autoimmune gastritis, *Helicobacter pylori* and celiac disease in refractory or unexplained iron deficiency anemia. *Haematologica* 2005; 90: 585–95.

Hershko C, Ronson A, Souroujon M, Maschler I, Heyd J, Patz J. Variable hematologic presentation of autoimmune gastritis: Age-related progression from iron deficiency to cobalamin depletion. *Blood* 2006; 107: 1673–9.

Herzlich B, Herbert V. Depletion of serum holotranscobalamin II. An early sign of negative vitamin B12 balance. *Lab Invest* 1988; 58 (3): 332-7.

Hin H, Clarke R, Sherliker P, Atoyebi W, Emmens K, Birks J et al. Clinical relevance of low serum vitamin B12 concentrations in older people: the Banbury B12 study. *Age Ageing* 2006; 35 (4): 416-22.

Hinds HE, Johnson AA, Webb MC, Graham AP. Iron, folate and vitamin B12 status in the elderly by gender and ethnicity. *J Natl Med Assoc* 2011; 103 (9&10): 870-7.

Hirschowitz BI, Worthington J, Mohnen J. Vitamin B12 deficiency in hypersecretors during long-term acid suppression with proton pump inhibitors. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 27 (11): 1110-21.

Ho CH, Kuo BI, Kong CW, Chau WK, Hsu HC, Gau JP. et al. Influence of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism, B vitamins and other factors on plasma homocysteine and risk of thromboembolic disease in Chinese. *J Chin Med Assoc* 2005; 68 (12): 560-5.

Ho GY, Eikelboom JW, Hankey GJ, Wong CR, Tan SL, Chan JB. et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and homocysteine-lowering effect of vitamin therapy in Singaporean stroke patients. *Stroke* 2006; 37 (2): 456-60.

Ho PI, Ortiz D, Rogers E, Shea TB. Multiple aspects of homocysteine neurotoxicity: glutamate excitotoxicity, kinase hyperactivation and DNA damage. *J Neurosci Res* 2002; 70 (5): 694-702.

Hoffman R, Benz EJ Jr, Shattil SJ. Megaloblastic anemias. *Hematology: Basic Principles and Practice*, 4th ed. Philadelphia, Churchill Livingstone, 2005, pp 519–556.

Holm PI, Hustad S, Ueland PM, Vollset SE, Grotmol T, Schneede J. Modulation of the homocysteine-betaine relationship by methylenetetrahydrofolate reductase 677 C→T genotypes and B-vitamin status in a large-scale epidemiological study. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92 (4): 1535-41.

Holmes MV, Newcombe P, Hubacek JA, Sofat R, Ricketts SL, Cooper J. et al. Effect modification by population dietary folate on the association between MTHFR genotype, homocysteine, and stroke risk: a meta-analysis of genetic studies and randomised trials. *Lancet* 2011; 378 (9791): 584-94.

Homocysteine Studies Collaboration. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis. *JAMA* 2002; 288 (16): 2015-22.

Horne BD, May HT, Muhlestein JB, Ronnow BS, Lappe DL, Renlund DG, et al. Exceptional mortality prediction by risk scores from common laboratory tests. *Am J Med* 2009; 122: 550–8.

Howden CW. Vitamin B12 levels during prolonged treatment with proton pump inhibitors. *J Clin Gastroenterol* 2000; 30: 29–33.

Huerta JM, González S, Vigil E, Prada M, San Martín J, Fernández S. et al. Folate and cobalamin synergistically decrease the risk of high plasma homocysteine in a

nonsupplemented elderly institutionalized population. Clin Biochem 2004; 37 (10): 904-10.

Hughes CF, Ward M, Hoey L, McNulty H. Vitamin B12 and ageing: current issues and interaction with folate. Ann Clin Biochem 2013. doi: 10.1177/0004563212473279.

Humbert P, Dupond JL. Multiple autoimmune syndromes. Ann Med Interne (Paris) 1988; 139 (3): 159-68.

Humphrey LL, Fu R, Rogers K, Freeman M, Helfand M. Homocysteine level and coronary heart disease incidence: a systematic review and meta-analysis. Mayo Clin Proc 2008; 83 (11): 1203-12.

Hung J, Beilby JP, Knuiman MW, Divitini M. Folate and vitamin B-12 and risk of fatal cardiovascular disease: cohort study from Busselton, Western Australia. BMJ 2003; 326 (7381): 131.

Hustad S, Midttun Ø, Schneede J, Vollset SE, Grotmol T, Ueland PM. The Methylenetetrahydrofolate Reductase 677C→T Polymorphism as a modulator of a B vitamin network with major effects on homocysteine metabolism. Am J Hum Genet 2007; 80 (5): 846 – 855.

Hvas AM, Nexø E. Holotranscobalamin - a first choice assay for diagnosing early vitamin B deficiency?. J Intern Med 2005; 257 (3): 289-98.

Hvas AM, Nexø E. Diagnosis and treatment of vitamin B12 deficiency. An update. Haematologica 2006 (11): 1506–1512.

Ibrahim S, El Dessokiy O. Prevalence of methylenetetrahydrofolate gene (MTHFR) C677T polymorphism among chronic hemodialysis patients and its association with cardiovascular disease: a cross-sectional analysis. Clin Exp Nephrol 2009; 13 (5): 501-7.

Iglesias Docampo A, Gómez del Olmo V, Antón Martín G. Déficit de vitamina B12 en ancianos: ¿lo sospechamos?. MGF 2007; 93: 101-3.

Ilhan N, Kucuksu M, Kaman D, Ilhan N, Ozbay Y. The 677 C/T MTHFR polymorphism is associated with essential hypertension, coronary artery disease, and higher homocysteine levels. Arch Med Res 2008; 39 (1): 125-30.

Instituto Nacional de Estadística (INE). Nota de prensa: Defunciones según la Causa de Muerte. Año 2011. 27 de febrero de 2013. Disponible en: <http://www.ine.es/prensa/np767.pdf>. Último acceso 27 de octubre de 2013.

Iqbal MP, Ishaq M, Kazmi KA, Yousuf FA, Mehboobali N, Ali SA. et al. Role of vitamins B6, B12 and folic acid on hyperhomocysteinemia in a Pakistani population of patients with acute myocardial infarction. Nutr Metab Cardiovasc Dis 2005; 15 (2): 100-8.

Iqtidar N, Chaudary MN. Misdiagnosed vitamin B12 deficiency a challenge to be confronted by use of modern screening markers. Pak Med Assoc 2012; 62 (11): 1223-9.

Isordia Salas I, Barinagarrementería-Aldatz F, Leños-Miranda A, Borrayo-Sánchez G, Vela-Ojeda J, García-Chávez J. et al. The C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with idiopathic ischemic stroke in the young Mexican-Mestizo population. Cerebrovasc Dis 2010; 29 (5): 454-9.

Isordia-Salas I, Trejo-Aguilar A, Valadés-Mejía MG, Santiago-Germán D, Leños-Miranda A, Mendoza-Valdéz L. et al. C677T polymorphism of the 5,10 MTHFR gene in young Mexican subjects with ST-elevation myocardial infarction. Arch Med Res 2010; 41 (4): 246-50.

Jabbar A, Yawar A, Waseem S, Islam N, UI Haq N, Zuberi L. et al. Vitamin B12 deficiency common in primary hypothyroidism. J Pak Med Assoc 2008; 58: 258-261.

Jacques PF, Bostom AG, Williams RR, Ellison RC, Eckfeldt JH, Rosenberg IH. Et al. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. *Circulation* 1996; 93 (1): 7-9.

James SJ, Pogribna M, Pogribny IP, Melnyk S, Hine RJ, Gibson JB. et al. Abnormal folate metabolism and mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene may be maternal risk factors for Down syndrome. *Am J Clin Nutr* 1999; 70 (4): 495-501.

John SW, Weitzner G, Rozen R, Scriver CR. A rapid procedure for extracting genomic DNA from leukocytes. *Nucleic Acids Res* 1991; 19 (2): 408.

Johnson MA, Hausman DB, Davey A, Poon LW, Allen RH, Stabler SP. Vitamin B12 deficiency in African American and white octogenarians and centenarians in Georgia. *J Nutr Health Aging* 2010; 14 (5): 339-45.

Joosten E, Van den Berg A, Reizler R, Naurath HJ, Lindenbaum J, Stabler SP. et al. Metabolic evidence that deficiencies of vitamin B12 (cobalamin), folate and vitamin B6 occur commonly in elderly people. *Am J Clin Nutr* 1993; 58: 468–476.

Kaltenbach G, Andrès E, Imler M. Ileal malabsorption of vitamin B12 in the chronic alcoholics. *Gastroenterol Clin Biol* 1995; 19 (5): 544-5.

Kamdi SP, Palkar P. Prevalence of hyperhomocysteinemia in healthy Indian doctors. *Bioinformation* 2013; 9 (4): 193-6.

Kanazawa S, Herbert V. Total corrinoid, cobalamin (vitamin B12), and cobalamin analogue levels may be normal in serum despite cobalamin in liver depletion in patients with alcoholism. *Lab Invest* 1985; 53 (1): 108-10.

Kang SS, Wong PW, Susmano A, Sora J, Norusis M, Ruggie N. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase: an inherited risk factor for coronary artery disease. *Am J Hum Genet* 1991; 48 (3): 536-45.

Kanth VV, Golla JP, Sastry BK, Naik S, Kabra N, Sujatha M. Genetic interactions between MTHFR (C677T), methionine synthase (A2756G, C2758G) variants with vitamin B12 and folic acid determine susceptibility to premature coronary artery disease in Indian population. *J Cardiovasc Dis Res* 2011; 2 (3): 156-63.

Kaptan K, Beyan C, Ural AU, Cetin T, Avcu F, Gülsen M. et al. *Helicobacter pylori* – is it a novel causative agent in vitamin B12 deficiency?. *Arch Intern Med* 2000; 160: 1349–53.

Karabiber H, Sonmezgoz E, Ozerol E, Yakinci C, Otlu B, Yologlu S. Effects of valproate and carbamazepine on serum levels of homocysteine, vitamin B12, and folic acid. *Brain & Development* 2003; 25: 113–115.

Khandanpour N, Loke YK, Meyer FJ, Jennings B, Armon MP. Homocysteine and peripheral arterial disease: systematic review and meta-analysis. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2009; 38 (3): 316-22.

Kim MK, Ordovas JM, Selhub J, Campos H. B vitamins and plasma homocysteine concentrations in an urban and rural area of Costa Rica. *J Am Coll Nutr* 2003; 22 (3): 224-31.

Klee GG. Cobalamin and folate evaluation: measurement of methylmalonic acid and homocysteine vs vitamin B(12) and folate. *Clin Chem* 2000; 46 (8 Pt 2): 1277-83.

Klerk M, Verhoef P, Clarke R, Blom HJ, Kok FJ, Schouten EG; MTHFR Studies Collaboration Group. MTHFR 677C→T polymorphism and risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *JAMA* 2002; 288 (16): 2023-31.

Kluitjans LA, Young IS, Boreham CA, Murray L, McMaster D, McNulty H. et al. Genetic and nutritional factors contributing to hyperhomocysteinemia in young adults. *Blood* 2003; 101 (7): 2483-8.

Koehler KM, Romero LJ, Stauber PM, Pareo-Tubbeh SL, Liang HC, Baumgartner RN. et al. Vitamin supplementation and other variables affecting serum homocysteine and

methylmalonic acid concentrations in elderly men and women. *J Am Coll Nutr* 1996; 15 (4): 364-76.

Koenig V, Stanga Z, Zerlauth M, Bernasconi L, Risch M, Huber A et al. Prevalence of vitamin B12 depletion and deficiency in Liechtenstein. *Public Health Nutr* 2012: 1-7.

Kos E, Liszek MJ, Emanuele MA, Durazo-Arvizu R, Camacho P. Effect of metformin therapy on vitamin D and vitamin B₁₂ levels in patients with type 2 diabetes mellitus. *Endocr Pract* 2012; 18 (2): 179-84.

Koshy AS, Kumari SJ, Ayyar V, Kumar P. Evaluation of serum vitamin B12 levels in type 1 diabetics attending a tertiary care hospital: A preliminary cross - sectional study. *Indian J Endocrinol Metab* 2012; Suppl 1: S79-82.

Kozyraki R. Cases O. Vitamin B12 absorption: mammalian physiology and acquired and inherited disorders. *Biochimie* 2013; 95 (5): 1002-7.

Kräutler B. Biochemistry of B12-cofactors in human metabolism. *Subcell Biochem* 2012; 56: 323-46.

Kruman II, Culmsee C, Chan SL, Kruman Y, Guo Z, Penix L. et al. Homocysteine elicits a DNA damage response in neurons that promotes apoptosis and hypersensitivity to excitotoxicity. *J Neurosci* 2000; 20 (18): 6920-6.

Kubota K, Kurabayashi H, Kawada E, Okamoto K, Shirakura T. Restoration of abnormally high CD4/CD8 ratio and low natural killer cell activity by vitamin B12 therapy in a patient with post-gastrectomy megaloblastic anemia. *Intern Med* 1992; 31 (1): 125-6.

Kumar J, Garg G, Kumar A, Sundaramoorthy E, Sanapala KR, Ghosh S. et al. Single nucleotide polymorphisms in homocysteine metabolism pathway genes: association of CHDH A119C and MTHFR C677T with hyperhomocysteinemia. *Circ Cardiovasc Genet* 2009; 2 (6): 599-606.

Kwan L, Bermudez OI, Tucker KL. Low vitamin B-12 intake and status are more prevalent in Hispanic older adults of Caribbean origin than in neighborhood-matched non-Hispanic whites. *J Nutr* 2002; 132 (7): 2059-2064.

Kwok T, Cheng G, Woo J, Lai WK, Pang CP. Independent effect of vitamin B12 deficiency on hematological status in older Chinese vegetarian women. *Am J Hematol* 2002; 70 (3): 186-90.

Lachner C, Steinle NI, Regenold WT. The neuropsychiatry of vitamin B12 deficiency in elderly patients. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 2012; 24 (1): 5-15.

Lahiri DK, Nurnberger JI Jr. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res* 1991; 19 (19): 5444.

Lahner E, Annibale B. Pernicious anemia: new insights from a gastroenterological point of view. *World J Gastroenterol* 2009; 15 (41): 5121-8.

Lahner E, Persechino S, Annibale B. Micronutrients (other than iron) and *Helicobacter pylori* infection: a systematic review. *Helicobacter* 2012; 17: 1-15.

Laillou A, Pham TV, Tran NT, Le HT, Wieringa F, Rohner F et al. Micronutrient deficits are still public health issues among women and young children in Vietnam. *PLoS ONE* 2012; 7 (4): e34906. doi: 10.1371/journal.pone.0034906.

Lambert D, Benhayoun S, Adjalla C, Gélout MM, Renkes P, Gérard P. et al. Alcoholic cirrhosis and cobalamin metabolism. *Digestion* 1997; 58 (1): 64-71.

Langan RC, Zawistoski KJ. Update on Vitamin B12 Deficiency. *Am Fam Physician* 2011; 83 (12): 1425-30.

Lechner K, Födinger M, Grisold W, Püspök A, Sillaber C. Vitamin B12 deficiency. New data on an old theme. *Wien Klin Wochenschr* 2005; 117 (17): 579-91.

Lee GR. Pernicious anemia and other causes of vitamin B12 (cobalamin) deficiency. Wintrobe's Clinical hematology. 10th Ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1999: 941-64.

Lee-Guzman C, Guzman M, Ghahramani E, Johnson T, Thakur V, Canton D. et al. A study of the prevalence of vitamin B12 deficiency in Turlock, California. Osteo Fam Physician 2011; 3 (5): 195-201.

Lee YM, Lee MK, Bae SG, Lee SH, Kim SY, Lee DH. Association of homocysteine levels with blood lead levels and micronutrients in the US general population. J Prev Med Public Health 2012; 45 (6): 387-93.

Leja M, Cine E, Rudzite D, Vilkoite I, Huttunen T, Daugule I. et al. Prevalence of Helicobacter pylori infection and atrophic gastritis in Latvia. Eur J Gastroenterol Hepatol 2012; 24 (12): 1410-7.

Lerner V, Kanesky M. Acute dementia with delirium due to vitamin B12 deficiency: a case report. Int J Psychiatry Med 2002; 32 (2): 215-20.

Levine SK, Sachs GA, Jin L, Meltzer D. A prognostic model for 1-year mortality in older adults after hospital discharge. Am J Med 2007; 120: 455-60.

Lewis SJ, Ebrahim S, Davey Smith G. Meta-analysis of MTHFR 677C>T polymorphism and coronary heart disease: does totality of evidence support causal role for homocysteine and preventive potential of folate?. BMJ 2005; 331 (7524): 1053.

Lien EA, Nedrebø BG, Varhaug JE, Nygård O, Aakvaag A, Ueland PM. Plasma total homocysteine levels during short-term iatrogenic hypothyroidism. J Clin Endocrinol Metab 2000; 85 (3): 1049-53.

Lietava J, B BV, Dukat A, Fodor GJ. Homocysteine Slovakia study: study design and occurrence of hyperhomocysteinaemia and other risk factors. Bratisl Lek Listy 2012; 113 (2): 80-6.

Liew SC, Das-Gupta E, Wong SF, Lee N, Safdar N, Jamil A. Association of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 677 C > T gene polymorphism and homocysteine levels in psoriasis vulgaris patients from Malaysia: a case-control study. *Nutr J* 2012; 11: 1. doi: 10.1186/1475-2891-11-1.

Lim HS, Heo YR. Plasma total homocysteine, folate, and vitamin B12 status in Korean adults. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 2002; 48 (4): 290-7.

Lindenbaum J, Klipstein FA. Folic acid clearances and basal serum folate levels in patients with thyroid disease. *J Clin Pathol* 1964; 17 (6): 666-70.

Lindenbaum J, Savage DG, Stabler SP, Allen RH. Diagnosis of cobalamin deficiency: II. Relative sensitivities of serum cobalamin, methylmalonic acid, and total homocysteine concentrations. *Am J Hematol* 1990; 34 (2): 99-107.

Lindenbaum J, Rosenberg I, Wilson P, Stabler SP, Allen RH. Prevalence of cobalamin deficiency in the Framingham elderly population. *Am J Clin Nutr* 1994; 60: 2–11.

Lippi G, Montagnana M, Targher G, Salvagno GL, Guidi GC. Prevalence of folic acid and vitamin B12 deficiencies in patients with thyroid disorders. *J Med Sci* 2008; 336 (1): 50-52.

Lippi G, Targher G, Montagnana M, Salvagno GL, Zoppini G, Guidi GC. Relation between red blood cell distribution width and inflammatory biomarkers in a large cohort of unselected outpatients. *Arch Pathol Lab Med* 2009; 133: 628–32.

Lippi G, Plebani M. Hyperhomocysteinemia in health and disease: where we are now, and where do we go from here?. *Clin Chem Lab Med* 2012; 50 (12): 2075-80.

Lipton SA, Kim WK, Choi YB, Kumar S, D'Emilia DM, Rayudu PV. et al. Neurotoxicity associated with dual actions of homocysteine at the N-methyl-D-aspartate receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94 (11): 5923-8.

Liu KW, Dai DLK, Ho W, Lau E, Woo J. Metformin-associated vitamin B12 deficiency in the elderly. *Asian J Gerontol Geriatr* 2011; 6: 82-7.

Loikas S, Koskinen P, Irjala K, Löppönen M, Isoaho R, Kivela SL. et al. Vitamin B12 deficiency in the aged: a population-based study. *Age & Aging* 2007; 36: 177-83.

Lominadze D, Tyagi N, Sen U, Ovechkin A, Tyagi SC. Homocysteine alters cerebral microvascular integrity and causes remodeling by antagonizing GABA-A receptor. *Mol Cell Biochem* 2012; 371 (1-2): 89-96.

Long AN, Atwell CL, Yoo W, Solomon SS. Vitamin B(12) deficiency associated with concomitant metformin and proton pump inhibitor use. *Diabetes Care* 2012; 35 (12): e84. doi: 10.2337/dc12-0980.

Lonn E, Yusuf S, Arnold MJ, Sheridan P, Pogue J, Micks M. et al. Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease. *N Engl J Med* 2006; 354 (15): 1567-77.

Looker HC, Fagot-Campagna A, Gunter EW, Pfeiffer CM, Sievers ML, Bennett PH. et al. Homocysteine and vitamin B(12) concentrations and mortality rates in type 2 diabetes. *Diabetes Metab Rev* 2007; 23: 193–201.

Loukili NH, Noel E, Blaison G, Goichot B, Kaltenbach G, Rondeau M. et al. Update of pernicious anemia. A retrospective study of 49 cases. *Rev Med Interne* 2004; 25 (8): 556-61.

Lündström IMC, Lindström FD. Iron and vitamin deficiencies, endocrine and immune status in patients with primary Sjögren's syndrome. *Oral Diseases* 2001; 7: 144–49.

MacFarlane AJ, Greene-Finestone LS, Shi Y. Vitamin B-12 and homocysteine status in a folate-replete population: results from the Canadian Health Measures Survey. *Am J Clin Nutr* 2011; 94 (4): 1079-87.

Mahalle N, Kulkarni MV, Garg MK, Naik SS. Vitamin B12 deficiency and hyperhomocysteinemia as correlates of cardiovascular risk factors in Indian subjects with coronary artery disease. *J Cardiol* 2013; 61 (4): 289-94.

Makhoul BF, Khourieh A, Kaplan M, Bahouth F, Aronson D, Azzam ZS. Relation between changes in red cell distribution width and clinical outcomes in acute decompensated heart failure. *Int J Cardiol* 2013; 167 (4): 1412-6.

Maktouf C, Bchir F, Louzir H, Elloumi M, Ben Abid H, Mdhafer M. et al. Clinical spectrum of cobalamin deficiency in Tunisia. *Ann Biol Clin (Paris)* 2007; 65 (2): 135-42.

Malinowska A, Chmurzynska A. Polymorphism of genes encoding homocysteine metabolism-related enzymes and risk for cardiovascular disease. *Nutr Res* 2009; 29 (10): 685-95.

Marar O, Senturk S, Agha A, Thompson C, Smith D. The prevalence of vitamin B12 deficiency in patients with type 2 diabetes mellitus on metformin. *RCSI Stud Med J* 2011; 4 (1): 16-20.

Marcuard SP, Albernaz L, Khazanie PG. Omeprazole therapy causes malabsorption of cyanocobalamin (vitamin B12). *Ann Intern Med* 1994; 120: 211-5.

Marengoni A, Cossi S, De Martinis M, Calabrese PA, Orini S, Grassi V. Homocysteine and disability in hospitalized geriatric patients. *Metabolism* 2004; 53: 1016-20.

Marino MC, de Oliveira CA, Rocha AM, Rocha GA, Clementino NC, Antunes LF. et al. Long-term effect of *Helicobacter pylori* eradication on plasma homocysteine in elderly patients with cobalamin deficiency. *Gut* 2007; 56: 469-74.

Marengoni A, Cossi S, De Martinis M, Ghisla MK, Calabrese PA, Zanolini G, Leonardi R. Adverse outcomes in older hospitalized patients: the role of multidimensional geriatric assessment. *Aging Clin Exp Res* 2003; 15 (1): 32-7.

Mariño Suárez JE, Izquierdo Pradas L, Milan Vegas A. Deficiencia de vitamina B12 en pacientes diabéticos tratados con metformina. *Med Clin (Barc)* 2012; 138 (11): 498–500.

Marniemi J, Järvisalo J, Toikka T, Rähkä I, Ahotupa M, Sourander L. Blood vitamins, mineral elements and inflammation markers as risk factors of vascular and non-vascular disease mortality in an elderly population. *Int J Epidemiol* 1998; 27 (5): 799-807.

Marosi K, Agota A, Végh V, Joó JG, Langmár Z, Kriszbacher I. et al. The role of homocysteine and methylenetetrahydrofolate reductase, methionine synthase, methionine synthase reductase polymorphisms in the development of cardiovascular diseases and hypertension. *Orv Hetil* 2012; 153 (12):445-53.

Martí-Carvajal AJ, Solà I, Lathyris D, Karakitsiou DE, Simancas-Racines D. Homocysteine-lowering interventions for preventing cardiovascular events. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; 1: CD006612. doi: 10.1002/14651858.

Martínez-Estrada KM, Cadabal Rodríguez T, Miguens Blanco I, García Méndez L. Manifestaciones neurológicas por déficit aislado de Vitamina B12. *Semergen* 2013; 39 (5): e8-e11.

Martínez Frías ML, Bermejo E, Rodríguez-Pinilla E, Generoso A, Lorenzo B; Grupo de trabajo del ECEMC. Frecuencia de la mutación 677C-T del gen de la metilentetrahidrofolato reductasa en una muestra de 652 recién nacidos de toda España. *Med Clin (Barc)* 2004; 122 (10): 361-364.

Martínez Marín JD, Henao Riveros SC, Rey Tovar MH. Niveles de vitamina B12 en pacientes colombianos con gastritis crónica atrófica. *Rev Col Gastroenterol* 2010; 25 (3): 261-264.

Martínez-Estrada KM, Cadabal Rodríguez T, Miguens Blanco I, García Méndez L. Manifestaciones neurológicas por déficit aislado de Vitamina B12. *Semergen* 2013; 39 (5): e8-e11.

Martínez Velilla N, Ibáñez B, Cambra K, Alonso-Renedo J. Red blood cell distribution width, multimorbidity, and the risk of death in hospitalized older patients. *Age (Dordr)* 2012; 34: 717–23.

Matchar DB, McCrory DC, Millington DS, Feussner JR. Performance of the serum cobalamin assay for diagnosis of cobalamin deficiency. *Am J Med Sci* 1994; 308 (5):276-83.

Mateos-Polo L, Miramontes González P, Cubino Bóveda N, González Fernández I, Herraiz García J, Sánchez Rodríguez A. Estudio clínico-epidemiológico del síndrome anémico en el Servicio de Medicina Interna I (2004-2008). *Rev Clin Esp* 2009; 209 (Supl 1): 107.

Matteini AM, Walston JD, Fallin MD, Bandeen-Roche K, Kao WH, Semba RD. et al. Markers of B-vitamin deficiency and frailty in older women. *J Nutr Health Aging* 2008; 12 (5): 303-8.

Matthews JH. Cobalamin and folate deficiency in the elderly. *Baillieres Clin Haematol* 1995; 8(3): 679-97.

Mattsson MP, Kruman II, Duan W. Folic acid and homocysteine in age-related disease. *Ageing Res Rev* 2002; 1 (1): 95-111.

Mattson MP, Shea TB. Folate and homocysteine metabolism in neural plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neuro* 2003; 26 (3): 137-146.

May RB, Sunder TR. Hematologic manifestations of long-term valproate therapy. *Epilepsia* 1993; 34: 1098–1101.

Mayor Olea A, Callejón G, Palomares AR, Jiménez AJ, Gaitón MJ, Rodríguez A. et al. Human genetic selection on the MTHFR 677C→T polymorphism. *BMC Med Genet* 2008; 9:104. doi: 10.1186/1471-2350-9-104.

Mazokopakis EE, Starakis IK. Recommendations for diagnosis and management of metformin-induced vitamin B12 (Cbl) deficiency. *Diabetes Res Clin Pract* 2012; 97 (3): 359-67.

McCaddon A, Hudson P, Davies G, Hughes A, Williams JH, Wilkinson C. Homocysteine and cognitive decline in healthy elderly. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2001; 12 (5): 309-13.

McCaddon A. Vitamin B12 in neurology and ageing; clinical and genetic aspects. *Biochimie* 2013; 95 (5): 1066-76.

McCully KS. Hyperhomocysteinemia and arteriosclerosis: historical perspectives. *Clin Chem Lab Med* 2005; 43 (10): 980-6.

McCully KS. Homocysteine, vitamins, and vascular disease prevention. *Am J Clin Nutr* 2007; 86 (5): 1563S-8S.

McLean ED, Allen LH, Neumann CG, Pearson JN, Siekmann JH, Murphy SP. et al. Low plasma vitamin B-12 in Kenyan school children is highly prevalent and improved by supplemental animal source foods. *J Nutr* 2007; 137: 676-68.

McLean E, de Benoist B, Allen LH. Review of the magnitude of folate and vitamin B12 deficiencies worldwide. *Food Nutr Bull* 2008; 29 (2 Suppl): S38-51.

McNeill G, Vyvyan J, Peace H, Mckie L, Seymour G, Hendry J et al. Predictors of micronutrient status in men and women over 75 years old living in the community. *Br J Nutr* 2002; 88: 55-561.

Meertens L, Solano L. Vitamina B12, ácido fólico y función mental en adultos mayores. *Invest Clin* 2005; 46 (1): 53-63.

Meertens L, Díaz N, Solano L, Baron MA, Rodríguez A. Serum homocysteine, folate and vitamin B12 in Venezuelan elderly. *Arch Latinoam Nutr* 2007; 57(1): 26.

Meier M, Janosik M, Kery V, Kraus JP, Burkhard P. Structure of human cystathionine beta-synthase: a unique pyridoxal 5'-phosphate-dependent heme protein. *EMBO J* 2001; 20 (15): 3910-6.

Memişoğulları R, Yildirim HA, Uçgun T, Erkan ME, Güneş C, Erbaş M. et al. Prevalence and etiology of anemias in the adult Turkish population. *Turk J Med Sci* 2012; 42 (6): 957-963.

Mendoza Bermúdez C, de la Espriella Pérdomo M. Manifestaciones neuropsiquiátricas del déficit de vitamina B12. *Rev Colomb Psiquiat* 2008; 37 (1): 129-139.

Merryweather-Clarke AT, Shearman JD, Robson KJ, Pointon JJ, Liu YT, Bomford A. et al. Hemochromatosis-related mutation detection. *Blood* 1998; 91 (7): 2620-1.

Mete N, Gulbahar O, Aydin A, Sin AZ, Kokuludag A, Sebik F. low B12 levels in chronic idiopathic urticaria. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2004; 14 (4): 292-299.

Miller JW, Garrod MG, Rockwood AL, Kushnir MM, Allen LH, Haan MN, Green R. Measurement of total vitamin B12 and holotranscobalamin, singly and in combination, in screening for metabolic vitamin B12 deficiency. *Clin Chem* 2000; 52 (2): 278-85.

Miller JW, Garrod MG, Rockwood AL, Kushnir MM, Allen LH, Haan MN. et al. Measurement of total vitamin B12 and holotranscobalamin, singly and in combination, in screening for metabolic vitamin B12 deficiency. *Clin Chem* 2006; 52 (2): 278-85.

Miller JW, Garrod MG, Allen LH, Haan MN, Green R. Metabolic evidence of vitamin B-12 deficiency, including high homocysteine and methylmalonic acid and low holotranscobalamin, is more pronounced in older adults with elevated plasma folate. *Am J Clin Nutr* 2009; 90 (6): 1586–1592.

Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988; 16 (3): 1215.

Mintzer S, Skidmore CT, Sperling MR. B-vitamin deficiency in patients treated with antiepileptic drugs. *Epilepsy Behav* 2012; 24 (3): 341-4.

Mirkazemi C, Peterson GM, Tenni PC, Jackson SL. Vitamin B12 deficiency in Australian residential aged care facilities. *J Nutr Health Aging* 2012; 16 (3): 277-80.

Mischoulon D, Burger JK, Spillmann MK, Worthington JJ, Fava M, Alpert JE. Anemia and macrocytosis in the prediction of serum folate and vitamin B12 status, and treatment outcome in major depression. *J Psychosom Res* 2000; 49 (3): 183-7.

Miyaki K. Genetic polymorphisms in homocysteine metabolism and response to folate intake: a comprehensive strategy to elucidate useful genetic information. *J Epidemiol* 2010; 20 (4): 266-70.

Mokorram P, Naghibalhossaini F, Firoozi MS, Hosseini SV, Izadpanah A, Salahi H. et al. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T genotype affects promoter methylation of tumor-specific genes in sporadic colorectal cancer through an interaction with folate/vitamin B12 status. *World J Gastroenterol* 2008; 14 (23): 3662–3671.

Moretti R, Torre P, Antonello RM, Cattaruzza T, Cazzato G, Bava A. Vitamin B12 and folate depletion in cognition: a review. *Neurol India* 2004; 52 (3): 310-8.

Morris MS, Jacques PF, Rosenberg IH, Selhub J. Elevated serum methylmalonic acid concentrations are common among elderly Americans. *J Nutr* 2002; 132 (9): 2799-803.

Morris MS, Jacques PF, Rosenberg IH, Selhub J. 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* 2007; 85 (1): 193–200.

Motti C, Gnasso A, Bernardini S, Massoud R, Pastore A, Rampa P. et al. Common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. Correlation with homocysteine and other risk factors for vascular disease. *Atherosclerosis* 1998; 139 (2): 377-83.

Mullis KB, Faloona FA. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol* 1987;155: 335-50.

Mullis KB. Target amplification for DNA analysis by the polymerase chain reaction. *Ann Biol Clin (Paris)* 1990; 48 (8): 579-82.

Muñoz Moran E, Dieguez-Lucena JL, Fernandez-Arcas N, Peran-Mesa S, Reyes-Engel A. Genetic selection and folate intake during pregnancy. *Lancet* 1998, 352 (9134): 1120-1.

Nafil H, Tazi I, Sifessalam M, Bouchtia M, Mahmal L. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in anemia by vitamin B12 deficiency in Marrakech (Morocco). *Presse Med* 2012; 41 (10): 1042-5.

Nadir Y, Hoffman R, Brenner B. Association of homocysteine, vitamin B12, folic acid, and MTHFR C677T in patients with a thrombotic event or recurrent fetal loss. *Ann Hematol* 2007; 86 (1): 35-40.

Neri MC, Lai L, Bonetti P, Baldassarri AR, Monti M, De Luca P. et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in elderly inpatients and in institutionalized old people: correlation with nutritional status. *Age Ageing* 1996; 25 (1): 17-21.

Nervo M, Lubini A, Raimundo FV, Faulhaber GA, Leite C, Fischer LM, Furlanetto TW. Vitamin B12 in metformin-treated diabetic patients: a cross-sectional study in Brazil. *Rev Assoc Med Bras* 2011; 57 (1): 46-9.

Ness-Abramof R, Nabriski DA, Braverman LE et al. Prevalence and evaluation of B12 deficiency in patients with autoimmune thyroid disease. *Am J Med Sci* 2006; 332:119-122.

Nexo E, Hoffmann-Lucke E. Holotranscobalamin, a marker of vitamin B12 status: analytical aspects and clinical utility. *Am J Clin Nutr* 2011; 94: 359S-365S.

Nicolas JP, Guéant JL. Absorption, distribution and excretion of vitamin B12. *Ann Gastroenterol Hepatol* (Paris) 1994; 30 (6): 270-6, 281; discussion 281-2.

Nielsen MJ, Rasmussen MR, Andersen CB, Nexø E, Moestrup SK. Vitamin B12 transport from food to the body's cells--a sophisticated, multistep pathway. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 9 (6): 345-54.

Nilsson-Ehle H, Jagenburg R, Landahl S, Lindstedt S, Svanborg A, Westin J. Serum cobalamins in the elderly: a longitudinal study of a representative population sample from age 70 to 81. *Eur J Haematol* 1991; 47 (1): 10-6.

Nishio K, Goto Y, Kondo T, Ito S, Ishida Y, Kawai S. et al. Serum folate and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism adjusted for folate intake. *J Epidemiol* 2008; 18 (3): 125-31.

Nogales-Gaete J, Jiménez P, García P, Sáez D, Aracena R, González J. et al. Subacute combined degeneration of the spinal cord caused by vitamin B12 deficiency. Report of 11 cases. *Rev Med Chil* 2004; 132 (11): 1377-82.

Ng TP, Feng L, Niti M, Kua EH, Yap KB. Folate, vitamin B12, homocysteine, and depressive symptoms in a population sample of older Chinese adults. *J Am Geriatr Soc* 2009; 57 (5): 871-6.

Ng TP, Aung KC, Feng L, Scherer SC, Yap KB. Homocysteine, folate, vitamin B-12, and physical function in older adults: cross-sectional findings from the Singapore Longitudinal Ageing Study. *Am J Clin Nutr* 2012; 96: 1362-8.

Obeid R, Schorr H, Eckert R, Herrmann W. Vitamin B12 status in the elderly as judged by available biochemical markers. *Clin Chem* 2004; 50 (1): 238-41.

Obeid R, Jung J, Falk J, Herrmann W, Geisel J, Friesenhahn-Ochs B. et al. Serum vitamin B12 not reflecting vitamin B12 status in patients with type 2 diabetes. *Biochimie* 2013; 95 (5): 1056-61.

Oh R, Brown DL. Vitamin B12 deficiency. *Am Fam Physician* 2003; 67 (5): 979-86.

O'Leary F, Samman S. Vitamin B12 in health and disease. *Nutrients* 2010; 2 (3): 299-316.

O'Leary F, Flood VM, Petocz P, Allman-Farinelli M, S Samman. B vitamin status, dietary intake and length of stay in a sample of elderly rehabilitation patients. *J Nutr Health Aging* 2011; 15 (6): 485-9.

Olivares M, Hertrampf E, Capurro MT, Wegner D. Prevalence of anemia in elderly subjects living at home: role of micronutrient deficiency and inflammation. *Eur J Clin Nutr* 2000; 54 (11): 834-839.

Olson RE. Biographical article: Karl August Folkers (1906–1997). *J Nutr* 2001; 131: 2227–2230.

Orzechowska-Pawilajc A, Sworczak K, Lewczuk A, Babinska A. Homocysteine, folate and cobalamin levels in hypothyroid women before and after treatment. *Endocr J* 2007; 54 (3): 471-6.

Ouvarovskaia V, Portillo K, Delgado MT, Requeno MN, Torrente JI, Pinilla M. et al. Deficiencia de vitamina B12 en diabéticos tipo 2 tratados con metformina. *Aten Primaria* 2013; 45 (2): 121-2.

Ozbek Z, Kucukali CI, Ozkok E, Orhan N, Aydin M, Kilic G. et al. Effect of the methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms on homocysteine, folate and vitamin B12 in patients with bipolar disorder and relatives. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008; 32 (5): 1331-7.

Ozer B, Serin E, Gumurdulu Y, Kayaselcuk F, Anarat R, Gur G. et al. *Helicobacter pylori* eradication lowers serum homocysteine level in patients without gastric atrophy. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 2764–7.

Ozmen F, Ozmen MM, Ozalp N, Akar N. The prevalence of factor V (G1691A), MTHFR (C677T) and PT (G20210A) gene mutations in arterial thrombosis. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.* 2009; 15 (2): 113-9.

Pagán K, Hou J, Goldenberg RL, Cliver SP, Tamura T. Effect of smoking on serum concentrations of total homocysteine and B vitamins in mid-pregnancy. *Clin Chim Acta* 2001; 306 (1-2): 103-9.

Paillaud E, Merlier I, Dupeyron C, Scherman E, Poupon J, Bories PN. Oral candidiasis and nutritional deficiencies in elderly hospitalised patients. *Br J Nutr* 2004; 92 (5): 861-7.

Palacios G, Ricardo Sola R, Barrios L, Pietrzik K, Castillo MJ, González-Gross M. Algorithm for the early diagnosis of vitamin B12 deficiency in elderly people. *Nutr Hosp* 2013; 28 (5): 1447-1452.

Palladino M, Chiusolo P, Reddiconto G, Marietti S, De Ritis D, Leone G. et al. MTHFR polymorphisms involved in vitamin B12 deficiency associated with atrophic gastritis. *Biochem Genet* 2009; 47 (9-10): 645-50.

Papapetrou C, Lynch SA, Burn J, Edwards YH. Methylenetetrahydrofolate reductase and neural tube defects. *Lancet* 1996; 348: 58.

Patel KV, Ferrucci L, Ershler WB, Longo DL, Guralnik JM. Red blood cell distribution width and the risk of death in middle-aged and older adults. *Arch Intern Med* 2009; 169: 515–23.

Patel KV, Semba RD, Ferrucci L, Newman AB, Fried LP, Wallace RB, et al. Red cell distribution width and mortality in older adults: A meta-analysis. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2010; 65: 258–65

Pautas E, Chérin P, De Jaeger C, Godeau P. Vitamin B 12 deficiency in the aged. *Presse Med* 1999; 28 (32): 1767-70.

Payinda G, Hansen T. Vitamin B12 deficiency manifested as psychosis without anemia. *Am J Psychiatry* 2000; 157: 660–661.

Pennix BW, Guralnik JH, Ferrucci L, Fried LP, Allen RH, Stabler SP. Vitamin B12 deficiency and depression in physically disabled older women: epidemiologic evidence from the women`s health and aging study. *Am J Psychiatry* 2000; 157: 715-21.

Pennypacker LC, Allen RH, Kelly JP, Matthews LM, Grigsby J, Kaye K. et al. High prevalence of cobalamin deficiency in elderly populations. *J Am Geriatr Soc* 1992; 40: 1197–204.

Pepe G, Camacho Vanegas O, Giusti B, Brunelli T, Marcucci R, Attanasio M. et al. Heterogeneity in world distribution of the thermolabile C677T mutation in 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase. *Am J Hum Genet* 1998; 63 (3): 917-20.

Pérez V, Hertramp E, Olivares M. Folato y Vitamina B12 en pediatría: Mirada actual. *Rev Ped Elec (en linea)* 2005; 2 (2): 44-52.

Pérez Bocanegra C, Romero Ruperto S, Toscano A, Solans R, Barbé J, Bujan S, San José A. et al. Características y prevalencia de la anemia en pacientes ingresados en una Unidad de Geriatria de un hospital de tercer nivel. *Rev Clin Esp* 2009; 209 (Supl 1): 111.

Pérez-Martín A, Horrillo-Sánchez de Ocaña L, Satué-Bartolomé JA, Belinchón Paraíso JC, Gonzalo-Pascua S, Marrero-Francés J. et al. Red cell distribution width and mortality following hospital discharge in patients over 70 years of age. *Med Clin (Barc)* 2013. doi: 10.1016/j.medcli.2013.05.027.

Perlstein TS, Weuve J, Pfeffer MA, Beckman JA. Red blood cell distribution width and mortality risk in a community-based prospective cohort. *Arch Intern Med* 2009; 169 (6): 588-94.

Perros P, Singh RK, Ludlam CA, Frier BM. Prevalence of pernicious anaemia in patients with Type 1 diabetes mellitus and autoimmune thyroid disease. *Diabet Med* 2000; 17 (10): 749-51.

Perry IJ, Refsum H, Morris RW, Ebrahim SB, Ueland PM, Shaper AG. Prospective study of serum total homocysteine concentration and risk of stroke in middle-aged British men. *Lancet* 1995; 346 (8987): 1395-8.

Petchkrua W, Burns SP, Stiens SA, James JJ, Little JW. Prevalence of vitamin B12 deficiency in spinal cord injury. *Arch Phys Med Rehabil* 2003; 84 (11): 1675-9.

Pflipsen MC, Oh RC, Saguil A, et al . The prevalence of vitamin B(12) deficiency in patients with type 2 diabetes: a cross-sectional study. *J Am Board Fam Med* 2009; 22 (5): 528-34.

Pinto Sala X. La homocisteína en la prevención de las enfermedades cardiovasculares. *Jano* 2004; 67 (1541): 75-78.

Piyathilake CJ, Macaluso M, Hine RJ, Richards EW, Krumdieck CL. Local and systemic effects of cigarette smoking on folate and vitamin B-12. *Am J Clin Nutr* 1994; 60 (4): 559-66.

Planells E, Sánchez C, Montellano MA, Mataix J, Llopis J. Vitamins B6 and B12 and folate status in an adult Mediterranean population. *Eu J Clin Nutr* 2003; 57 (6): 777-785.

Pront R, Margalioth EJ, Green R, Eldar-Geva T, Maimoni Z, Zimran A, Elstein D. Prevalence of low serum cobalamin in infertile couples. *Andrologia* 2009; 41(1): 46-50.

Provenzale D, Reinhold RB, Golner B, Irwin V, Dallal GE, Papathanasopoulos N. et al. Evidence for diminished B12 absorption after gastric bypass: oral supplementation does not prevent low plasma B12 levels in bypass patients. *J Am Coll Nutr* 1992; 11 (1): 29-35.

Pruthi RK, Tefferi A. Pernicious anemia revised. *Mayo Clin Proc* 1994; 69 (2): 144-50.

Qin X, Li J, Cui Y, Liu Z, Zhao Z, Ge J. et al. MTHFR C677T and MTR A2756G polymorphisms and the homocysteine lowering efficacy of different doses of folic acid in hypertensive Chinese adults. *Nutr J* 2012; 11: 2. doi: 10.1186/1475-2891-11-2.

Quinn K, Basu TK. Folate and vitamin B12 status of the elderly. *Eu J Clin Nutr* 1996; 50: 340-342.

Rafnsson SB, Saravanan P, Bhopal RS, Yajnik CS. Is a low blood level of vitamin B12 a cardiovascular and diabetes risk factor? A systematic review of cohort studies. *Eur J Nutr* 2011; 50 (2): 97-106.

Rahimi Z, Nomani H, Mozafari H, Vaisi-Raygani A, Madani H, Malek-Khosravi S. et al. Factor V G1691A, prothrombin G20210A and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism C677T are not associated with coronary artery disease and type 2 diabetes mellitus in western Iran *Blood Coagul Fibrinolysis* 2009; 20 (4): 252-6.

Rajan S, Wallace JI, Beresford SA, Brodtkin KI, Allen RA, Stabler SP. Screening for cobalamin deficiency in geriatric outpatients: prevalence and influence of synthetic cobalamin intake. *J Am Geriatr Soc* 2002; 50 (4): 624-30.

Rajkumar AP, Jebaraj P. Chronic psychosis associated with vitamin B12 deficiency. *J Assoc Physicians India* 2008; 56: 115–6.

Ramírez Pereda A, Pacheco BI, Astiazarán-García H, Esparza-Romero J, Alemán-Mateo H. Vitamin B12 and folate in non-institutionalized urban older people. *Arch Latinoam Nutr* 2006; 56 (2): 135-40.

Rasool S, Abid S, Iqbal MP, Mehboobali N, Haider G, Jafri W. Relationship between vitamin B12, folate and homocysteine levels and H. Pylori infection in patients with functional dyspepsia: A cross-section study. *BMC Res Notes* 2012; 5 (1): 206. doi:10.1186/1756-0500-5-206.

Ravaglia G, Forti P, Maioli F, Servadei L, Martelli M, Brunetti N. et al. Folate, but not homocysteine, predicts the risk of fracture in elderly persons. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2005; 60 (11): 1458-62.

Ray JG, Cole DE, Boss SC. An Ontario-wide study of vitamin B12, serum folate, and red cell folate levels in relation to plasma homocysteine: is a preventable public health issue on the rise?. *Clin Biochem* 2000; 33 (5): 337-43.

Ray JG, Shmorgun D, Chan WS. Common C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene and the risk of venous thromboembolism: meta-analysis of 31 studies. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2002; 32 (2): 51-8.

Ray JG, Cole DE. Vitamin B12 and homocysteine. *CMAJ* 2005; 173 (11): 1359-60.

Redéen S, Ryberg A, Petersson F, Eriksson O, Nägga K, Borch K. Homocysteine levels in chronic gastritis and other conditions: relations to incident cardiovascular disease and dementia. *Dig Dis Sci* 2010; 55 (2): 351-8.

Rees DC, Cox MJ, Clegg JB. World distribution of factor V Leiden. *Lancet* 1995; 346: 1133-4.

Refsum H, Yajnik CS, Gadkari M, Schneede J, Vollset SE, Orning L et al. Hyperhomocysteinemia and elevated methylmalonic acid indicate a high prevalence of cobalamin deficiency in Asian Indians. *Am J Clin Nutr* 2001; 74(2): 233-41.

Refsum H, Smith AD, Ueland PM, Nexø E, Clarke R, McPartlin J. et al. Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clin Chem* 2004; 50 (1): 3-32.

Reinstatler L, Qi YP, Williamson RS, Garn JV, Oakley GP. Association of biochemical B12 deficiency with metformin therapy and vitamin B12 supplements: the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2006. *Diabetes Care* 2012; 35 (2): 327-33.

Remacha A, Cadafalch J. Cobalamin deficiency in patients infected with the human immunodeficiency virus. *Semin Hematol* 1999; 36: 75-87.

Remacha AF, Sardà MP, Canals C, JM Queraltó, Zapico E, Remacha J, Carrascosa C. Combined cobalamin and iron deficiency anemia: a diagnostic approach using a model based on age and homocysteine assessment. *Ann Hematol* 2013; 92 (4): 527-31.

Reynolds E. Vitamin B12, folic acid, and the nervous system. *Lancet Neurol* 2006; 5 (11): 949-60.

Rissanen PM, Laakkonen EI, Suntioinen S, Penttilä IM, Uusitupa MI. The nutritional status of Finnish home-living elderly people and the relationship between energy intake and chronic diseases. *Age Ageing* 1996; 25 (2): 133-8.

Robertson J, Iemolo F, Stabler SP, Allen RH, Spence JD. Vitamin B12, homocysteine and carotid plaque in the era of folic acid fortification of enriched cereal grain products. *CMAJ* 2005; 172 (12): 1569-72.

Robinson DJ, O'Lunaigh C, Tehee E, O'Connell H, Hamilton F, Chin AV. et al. Vitamin B12 status, homocysteine and mortality amongst community-dwelling Irish elders. *Ir J Med Sci* 2011; 180 (2): 451-5.

Rochat MC, Vollenweider P, Waeber G. Therapeutic and clinical implications of elevated levels of vitamin B12. *Rev Med Suisse* 2012; 8 (360): 2072-4, 2076-7.

Rodríguez Esparragón F, Hernández-Perera O, Rodríguez-Pérez JC, Anábitarte A, Díaz-Cremades JM, Losada A. et al. The effect of methylenetetrahydrofolate reductase C677T common variant on hypertensive risk is not solely explained by increased plasma homocysteine values. *Clin Exp Hypertens* 2003; 25 (4): 209-20.

Rodríguez Fernández S, Almagro P, Irigoyen D, Cara J, Villalba T, Rodríguez Carballeira M. et al. La anemia en el paciente hospitalizado. *Rev Clin Esp* 2005; 205 (Supl 2): 117.

Rogers LM, Boy E, Mille JW, Green R, Sabel JC et al. High prevalence of cobalamin deficiency in Guatemalan schoolchildren: associations with low plasma

holotranscobalamin II and elevated serum methylmalonic acid and plasma homocysteine concentrations. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 433–40.

Rosenson RS. Overview of homocysteine. Disponible en: <http://www.uptodate.com/contents/overview-of-homocysteine>. Ultimo acceso 27 de noviembre de 2013.

Rufenach P, Mach-Pascual S, Iten A. Hypovitaminose B12: challenge diagnostique et thérapeutique. *Rev Med Suisse* 2008; 4: 2212-4; 2216-7.

Russell RM. Micronutrient requirements of the elderly. *Nutr Rev* 1992; 50 (12): 463-6.

Ryder SD, O'Reilly S, Miller RJ, Ross J, Jacyna MR, Levi AJ. Long term acid suppressing treatment in general practice. *BMJ* 1994; 308: 827–30.

Saavedra JM, Bello LM, Nuñez D, Ortega P, Medrano MJ. Mortalidad por enfermedad isquémica del corazón en las islas Canarias. Errores en la certificación de la variable «residencia» de los fallecidos en las zonas turísticas. *Boletín Epidemiológico semanal* 2001; 9: 161-168.

Sabeen S, Holroyd S. Vitamin B12 and psychiatric illness. *Ann Long Term Care* 2009; 17: 32–36.

Sadeghian S, Fallahi F, Salarifar M, Davoodi G, Mahmoodian M, Fallah N. et al. Homocysteine, vitamin B12 and folate levels in premature coronary artery disease. *BMC Cardiovasc Disord* 2006; 6: 38.

Sahin M, Tutuncu NB, Ertugrul D, Tanaci N, Guvener ND. Effects of metformin or rosiglitazone on serum concentrations of homocysteine, folate, and vitamin B12 in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complicat* 2007; 21: 118–23.

Salom IL, Silvis SE, Doscherholmen A. Effect of cimetidine on the absorption of vitamin B12. *Scand J Gastroenterol* 1982; 17 (1): 129-31.

Salles-Montaudon N, Dertheil S, Broutet N, Gras N, Monteiro L, De Mascarel A. et al. Detecting *Helicobacter pylori* infection in hospitalized frail older patients: the challenge. *J Am Geriatr Soc* 2002; 50 (10): 1674-80.

Salles-Montaudon N, Parrot F, Balas D, Bouzigon E, Rainfray M, Emeriau JP. Prevalence and mechanisms of hyperhomocysteinemia in elderly hospitalized patients. *J Nutr Health Aging* 2003; 7 (2): 111-6.

Salles N, Herrmann F, Sakbani K, Rapin CH, Sieber C. High vitamin B12 level: a strong predictor of mortality in elderly inpatients. *J Am Geriatr Soc* 2005; 53 (5): 917-8.

Salles N, Herrmann F, Sieber C, Rapin C. High vitamin B12 level and mortality in elderly inpatients. *J Nutr Health Aging* 2008; 12 (3): 219-21.

Salon IL, Silvas SE, Doscherholmen A. Effect of cimetidine on the absorption of vitamin B12. *Scand J Gastroenterol* 1982; 17: 129–31.

Sam RC, Burns PJ, Hobbs SD, Marshall T, Wilmink AB, Silverman SH. Et al. The prevalence of hyperhomocysteinemia, methylene tetrahydrofolate reductase C677T mutation, and vitamin B12 and folate deficiency in patients with chronic venous insufficiency. *J Vasc Surg* 2003; 38 (5): 904-8.

Sánchez C, Planells E, Aranda P, de la Cruz AP, Asensio C, Mataix J. et al. Vitamin B complex and homocysteine in chronic renal failure. *Nutr Hosp* 2007; 22 (6): 661-71.

Sánchez H, Albala C, Herlrampe F E, Verdugo R, Lavados M, Castillo JL. et al. Prevalence of vitamin B-12 deficiency in older adults. *Rev Med Chil* 2010; 138 (1): 44-52.

Sánchez Marín B, Grasa JM, Torres M, Calvo MT, Martínez-Jarreta B, García-Erce JA. et al. Prevalence of methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutation among patients with acute ischemic cerebrovascular disease in Aragon. *An Med Interna* 2006; 23 (4): 153-5.

Sánchez Marín B, Grasa JM. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism in ischemic vascular disease. *Rev Neurol* 2006; 43 (10): 630-6.

Saperstein DS, Wolfe GI, Gronseth GS, Nations SP, Herbelin LL, Bryan WW, Barohn R. Challenges in the identification of cobalamin deficiency polyneuropathy. *Arch Neurol* 2003; 60: 1296-1301.

Sarari AS, Farraj MA, Hamoudi W, Essawi TA. Helicobacter Pylori, a causative agent of vitamin B12 deficiency. *J Infect Developing Countries* 2008; 2 (5): 346-349.

Sarecka-Hujar B, Kopyta I, Pienczk-Reclawowicz K, Reclawowicz D, Emich-Widera E, Pilarska E. The TT genotype of methylenetetrahydrofolate reductase 677C>T polymorphism increases the susceptibility to pediatric ischemic stroke: meta-analysis of the 822 cases and 1,552 controls. *Mol Biol Rep* 2012; 39 (8): 7957-63.

Satyanarayana A, Balakrishna N, Pitla S, Reddy PY, Mudili S, Lopamudra P. et al. Status of B-vitamins and homocysteine in diabetic retinopathy: association with vitamin-B12 deficiency and hyperhomocysteinemia. *PLoS One* 2011; 6 (11): e26747. doi: 10.1371/journal.pone.0026747.

Savage DG, Lindenbaum J, Stabler SP, Allen RH. Sensitivity of serum methylmalonic acid and total homocysteine determinations for diagnosing cobalamin and folate deficiencies. *Am J Med* 1994; 96 (3): 239-46.

Scalabrino G. Cobalamin (vitamin B(12)) in subacute combined degeneration and beyond: traditional interpretations and novel theories. *Exp Neurol* 2005; 192 (2): 463-79.

Schenk BE, Festen HP, Kuipers EJ, Klinkenberg-Knol EC, Meuwissen SG. Effect of short- and long-term treatment with omeprazole on the absorption and serum levels of cobalamin. *Aliment Pharmacol Ther* 1996; 10: 541-5.

Schilling RF. Is nitrous oxide a dangerous anesthetic for vitamin B12-deficient subjects?. *JAMA* 1986; 255 (12): 1605-6.

Schindler K, Zauner C, Buchmayer H, Födinger M, Wölfl G, Bieglmayer C. et al. High prevalence of hyperhomocysteinemia in critically ill patients. *Crit Care Med* 2000; 28 (4): 991-5.

Schneede J, Ueland PM. Novel and established markers of cobalamin deficiency: complementary or exclusive diagnostic strategies. *Sem Vasc Med* 2005; 5: 140-45.

Schneider JA, Rees DC, Liu YT, Clegg JB. Worldwide distribution of a common methylenetetrahydrofolate reductase mutation. *Am J Hum Genet* 1998; 62 (5): 1258-60.

Schrier SL. Physiology of vitamin B12 and folate deficiency. Disponible en: www.uptodate.com/contents/physiology-of-vitamin-b12-and-folate-deficiency. Ultimo acceso 27 de julio de 2013.

Scott JM, Molloy AM. The discovery of vitamin B(12). *Ann Nutr Metab* 2012; 61 (3): 239-45.

Segal R, Baumoebl Y, Elkayam O, Levartovsky D, Litinsky I, Paran D. et al. Anemia, serum vitamin B12, and folic acid in patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, and systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int* 2004; 24 (1): 14-9.

Semba RD, Patel KV, Ferrucci L, Sun K, Roy CN, Guralnik JM, et al. Serum antioxidants and inflammation predict red cell distribution width in older women: The Women's Health and Aging Study I. *Clin Nutr* 2010; 29: 600-4.

Selhub J, Jacques PF, Wilson PW, Rush D, Rosenberg IH. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 1993; 270 (22): 2693-8.

Selhub J, Savaria Morris M, Jacques PF. In vitamin B12 deficiency, higher serum folate is associated with increased total homocysteine and methylmalonic acid concentrations. *Proc Nat Acad Sci* 2007; 104: 19995-20000.

Selhub J, Jacques PF, Dallal G, Choumenkovitch S, Rogers G. The use of blood concentrations of vitamins and their respective functional indicators to define folate and vitamin B12 status. *Food Nutr Bull* 2008; 29 (2 Suppl): S67-73.

Selhub J. Public health significance of elevated homocysteine. *Food Nutr Bull* 2008; 29 (2 Suppl): S116-25.

Selhub J, Rosenberg IH. Public health significance of supplementation or fortification of grain products with folic acid. *Food Nutr Bull* 2008; 29 (2 Suppl): S173-6.

Selhub J, Morris MS, Jacques PF, Rosenberg IH. Folate-vitamin B-12 interaction in relation to cognitive impairment, anemia, and biochemical indicators of vitamin B-12 deficiency. *Am J Clin Nutr* 2009; 89 (2): 702S-6S.

Sensoy N, Şoysal Y, Kahraman A, Doğan N, Imirzalıoğlu N. Modulator effects of the methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism on response to vitamin B12 therapy and homocysteine metabolism. *DNA Cell Biol* 2012; 31 (5): 820-5.

Serraj K, Mecili M, Housni I, Andrès E. Hypervitaminemia B12 (high level of cobalamin): physiopathology, role and interest in clinical practice. *Presse Med* 2011; 40 (12 Pt 1):1120-7.

Serin E, Gumurdulu Y, Özzer B, Kayaselcuk F, Yilmaz U, Kocak R. Impact of *Helicobacter pylori* on the development of vitamin B12 deficiency in the absence of gastric atrophy. *Helicobacter* 2002; 7: 337–41.

Shahar A, Feiglin L, Shahar DR, Levy S, Seligsohn U. High prevalence and impact of subnormal serum vitamin B12 levels in Israeli elders admitted to a geriatric hospital. *J Nutr Health & Aging* 2001; 5 (2): 124-127.

Shams M, Homayouni K, Omrani GR. Serum folate and vitamin B12 status in healthy Iranian adults. *East Mediterr Health J* 2009; 15 (5): 1285-92.

Shane B. Folate and vitamin B12 metabolism: overview and interaction with riboflavin, vitamin B6, and polymorphisms. *Food Nutr Bull* 2008; 29 (2 Suppl): S5-16; discussion S17-9.

Shobha V, Tarey SD, Singh RG, Shetty P, Unni US, Srinivasan K. Vitamin B12 deficiency & levels of metabolites in an apparently normal urban south Indian elderly population. *Indian J Med Res* 2011; 134 (4): 432–439.

Silver H. Vitamin B12 levels are low in hospitalized psychiatric patients. *Isr J Psychiatry Relat Sci* 2000; 37 (1): 41-5.

Sipponen P, Laxén F, Huotari K, Härkönen M. Prevalence of low vitamin B12 and high homocysteine in serum in an elderly male population: association with atrophic gastritis and *Helicobacter pylori* infection. *Scand J Gastroenterol*. 2003; 38 (12): 1209-16.

Siva A, De Lange M, Clayton D, Monteith S, Spector T, Brown MJ. The heritability of plasma homocysteine and the influence of genetic variation in the homocysteine methylation pathway. *Q J Med* 2007; 100: 495-499.

Smulders YM, Blom HJ. The homocysteine controversy. *J Inherit Metab Dis* 2011; 34 (1): 93-9.

Snow CF. Laboratory diagnosis of vitamin B12 and folate deficiency: a guide for the primary care physician. *Arch Intern Med* 1999; 159 (12): 1289-98.

Soberon M, Charaja A, Agüero Y, Oriondo R, Sandoval M, Nuñez M. Estudio de los niveles plasmáticos de homocisteína, ácido fólico y vitamina B-12 en una Población Limeña de Jóvenes Adultos. *An Fac Med* 2004; 65 (2): 89-96.

Sohda S, Arinami T, Hamada H, Yamada N, Hamaguchi H, Kubo T. Methylene tetrahydrofolate reductase polymorphism and pre-eclampsia. *J Med Genet* 1997; 34 (6): 525-6.

Solomon LR. Disorders of cobalamin (vitamin B12) metabolism: emerging concepts in pathophysiology, diagnosis and treatment. *Blood Rev* 2007; 21(3): 113-30.

Stabler SP, Allen RH, Savage DG, Lindenbaum J. Clinical spectrum and diagnosis of cobalamin deficiency. *Blood* 1990; 6 (5): 871–81.

Stabler SP. Screening the older population for cobalamin (vitamin B12) deficiency. *J Am Geriatr Soc* 1995, 43: 1290-1297.

Stabler SP, Allen RH. Vitamin B12 deficiency as a worldwide problem. *Annu Rev Nutr* 2004; 24: 299-326.

Stabler SP. Vitamin B12 Deficiency. *N Engl J Med* 2013; 368: 149-60.

Steinberg WM, King CE, Toskes PP. Malabsorption of protein-bound cobalamin but not unbound cobalamin during cimetidine administration. *Dig Dis Sci* 1980; 25: 188–92.

Stella G, Spada RS, Calabrese S, Bosco P, Anello G, Guéant-Rodriguez RM. et al. Association of thyroid dysfunction with vitamin B12, folate and plasma homocysteine levels in the elderly: a population-based study in Sicily. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45: 143-147.

Stevenson RE, Schwartz CE, Du Y-Z, Adams MJ Jr. Differences in methylenetetrahydrofolate reductase genotype frequencies between whites and blacks. *Am J Hum Genet* 1997; 60: 229–230.

Stone KL, Bauer DC, Sellmeyer D, Cummings SR. Low serum vitamin B-12 levels are associated with increased hip bone loss in older women: a prospective study. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89 (3): 1217-21.

Stott DJ, Langhorne P, Hendry A, McKay PJ, Holyoake T, Macdonald J, Lucie N. Prevalence and haemopoietic effects of low serum vitamin B12 levels in geriatric medical patients. *Br J Nutr* 1997; 78 (1): 57-63.

Stover PJ. Vitamin B12 and older adults. *Curr Opin Nutr Metab Care* 2010; 13: 24-27.

Streeter AM, Goulston KJ, Bathur FA, Hilmer RS, Crane GG, Pheils MT. Cimetidine and malabsorption of cobalamin. *Dig Dis Sci* 1982; 27: 13-6.

Suárez T, Torrealba M, Villegas N, Osorio C, García-Casal MN. Iron, folic acid and vitamin B12 deficiencies related to anemia in adolescents from a region with a high incidence of congenital malformations in Venezuela. *Arch Latinoam Nutr* 2005; 55 (2): 118-23.

Sukla KK, Raman R. Association of MTHFR and RFC1 gene polymorphism with hyperhomocysteinemia and its modulation by vitamin B12 and folic acid in an Indian population. *Eur J Clin Nutr* 2012; 66 (1): 111-118.

Sviri S, Khalaila R, Daher S, Bayya A, Linton DM, Stav I, van Heerden PV. Increased Vitamin B12 levels are associated with mortality in critically ill medical patients. *Clin Nutr* 2012; 31:53-9.

Szperl M, Dzielinska Z, Roszczyrko M, Malek LA, Makowiecka-Ciesla M, Demkow M. et al. Genetic variants in hypertensive patients with coronary artery disease and coexisting atheromatous renal artery stenosis. *Med Sci Monit* 2008; 14 (12): CR611-6.

Tal S, Shavit Y, Stern F, Malnick S. Association between Vitamin B12 levels and mortality in hospitalized older adults. *JAGS* 2010; 58: 523-526.

Tal S, Guller V, Shavit Y, Stern F, Malnick S. Mortality predictors in hospitalized elderly patients. *QJM* 2011; 104 (11): 933-8.

Tamura A, Fujioka T, Nasu M. Relation of *Helicobacter pylori* infection to plasma vitamin B12, folic acid, and homocysteine levels in patients who underwent diagnostic coronary arteriography. *Am J Gastroenterol* 2002; 97 (4): 861-6.

Tamura J, Kubota K, Murakami H, Sawamura M, Matsushima T, Tamura T. et al. Immunomodulation by vitamin B12: augmentation of CD8⁺ T lymphocytes and natural

killer (NK) cell activity in vitamin B12-deficient patients by methyl-B12 treatment. Clin Exp Immunol 1999; 116 (1): 28-32.

Tamura T, Aiso K, Johnston KE, Black L, Faught E. Homocysteine, folate, vitamin B-12 and vitamin B-6 in patients receiving antiepileptic drug monotherapy. Epilepsy Res 2000; 40: 7–15.

Tan CW, Ward CM, Morel-Kopp MC. Evaluating heparin-induced thrombocytopenia: the old and the new. Semin Thromb Hemost 2012; 38 (2): 135-43.

Tanaka T, Scheet P, Giusti B, Bandinelli S, Piras MG, Usala G. et al. Genome-wide association study of vitamin B6, vitamin B12, folate, and homocysteine blood concentrations. Am J Hum Genet 2009; 84(4): 477-82.

Thomson AB, Husemoen LL, Ovesen L, Jorgensen T, Fenger M, Linneberg A. Lifestyle and genetic determinants of folate and vitamin B12 levels in a general adult population. Br J Nutr 2010; 103 (8): 1195-2204.

Thuesen BH, Sauve MD, Kassam N, Kamitakahara H. Safety of the long-term use of proton pump inhibitors. World J Gastroenterol 2010; 16: 2323–30.

Thuesen BH, Husemoen LL, Ovesen L, Jørgensen T, Fenger M, Linneberg A. Lifestyle and genetic determinants of folate and vitamin B12 levels in a general adult population. Br J Nutr 2010; 103: 1195–1204.

Tiemeir H, Ruud Van de Tuijl H, Hoffman A, Meijer J, Kiliaan AJ, Breteler M. Vitamin B12, folate and homocysteine in depression: the Rotterdam study. Am J Psychiatry 2002; 159 (12): 2099-2101.

Ting RZ, Szeto CC, Chan MH, Ma KK, Chow KM. Risk factors of vitamin B(12) deficiency in patients receiving metformin. Arch Intern Med. 2006; 166 (18): 1975-9.

Toh BH, van Driel IR, Gleeson PA. Pernicious anemia. N Engl J Med 1997; 337: 1441-8.

Toh BH, Alderuccio F. Pernicious anaemia. *Autoimmunity* 2004; 37 (4): 357-61.

Top 200 drugs by retail sales in 2000. *Drug Topics* 2001; 6: 18–20.

Trabetti E. Homocysteine, MTHFR gene polymorphisms and cardio-cerebrovascular risk. *J Appl Genet* 2008; 49 (8): 267-282.

Trifa AP, Popp RA, Militaru MS, Farcaş MF, Crişan TO, Gana I. et al. HFE gene C282Y, H63D and S65C mutations frequency in the Transylvania region, Romania. *J Gastrointestin Liver Dis.* 2012; 21 (2): 177-80.

Tripathi AK, Verma SP, Himanshu D. Acute psychosis: a presentation of cyanocobalamin deficiency megaloblastic anemia. *Indian J Hematol Blood Transfus* 2010; 26(3): 99-100.

Troem AM. The central nervous system in animal models of hyperhomocysteinemia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2005; 29 (7): 1140-51.

Tucker KL, Rich S, Rosenberg I, Jacques P, Dallal G, Wilson PW et al. Plasma vitamin B-12 concentrations relate to intake source in the Framingham Offspring study. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 (2): 514-522.

Tucker KL, Qiao N, Scott T, Rosenberg I, Spiro A. High homocysteine and low B vitamins predict cognitive decline in aging men: the Veterans Affairs Normative Aging Study. *Am J Clin Nutr* 2005; 82 (3): 627-35.

Tungtrongchitr R, Pongpaew P, Phonrat B, Chanjanakitskul S, Paksanont S, Migasena P, Schelp FP. Vitamin B12, folic acid, ferritin and haematological variables among Thai construction site workers in urban Bangkok. *J Med Assoc Thai* 1995; 78 (1): 5-10.

Tungtrongchitr R, Pongpaew P, Soonthornruengyot M, Viroonudomphol D, Vudhivai N, Tungtrongchitr A. et al. Relationship of tobacco smoking with serum vitamin B12, folic acid and haematological indices in healthy adults. *Public Health Nutr* 2003; 6 (7): 675-81.

Ungvari Z, Csiszar A, Kaley G. Vascular inflammation in aging. *Herz* 2004; 29 (8): 733-40.

Ueland PM, Refsum H, Beresford SA, Vollset SE. The controversy over homocysteine and cardiovascular risk. *Am J Clin Nutr* 2000; 72 (2): 324-32.

Ueland PM, Hustad S, Schneede J, Refsum H, Vollset SE. Biological and clinical implications of the MTHFR C677T polymorphism. *Trends Pharmacol Sci* 2001; 22 (4): 195-201.

Valente E, Scott JM, Ueland PM, Cunningham C, Casey M, Molloy AM. Diagnostic accuracy of holotranscobalamin, methylmalonic acid, serum cobalamin, and other indicators of tissue vitamin B12 status in the elderly. *Clin Chem* 2011; 57 (6): 856-863.

Valuck RJ, Ruscin JM. A case-control study on adverse effects: H2 blocker or proton pump inhibitor use and risk of vitamin B12 deficiency in older adults. *J Clin Epidemiol* 2004; 57: 422–428.

van Asselt DZ, De Groot LC, Van Staveren WA, Blom HJ, Wevers RA, Biemond I. et al. Role of cobalamin intake and atrophic gastritis in mild cobalamin deficiency in older Dutch subjects. *Am J Clin Nutr* 1998; 68: 328-334.

van Asselt DZ, Blom HJ, Zuiderent R, Wevers RA, Jakobs C, van den Broek WJ. et al. Clinical significance of low cobalamin levels in older hospital patients. *The Netherlands J Med* 2000; 57 (2): 41–49.

Van Kimmenade RR, Mohammed AA, Uthamalingam S, van der Meer P, Felker GM, Januzzi Jr JL. Red blood cell distribution width and 1-year mortality in acute heart failure. *Eur J Heart Fail* 2010; 12: 129–36.

Van Kimmenade RR, Januzzi JL. Red cell distribution width measurement: What role does it have in heart failure? *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)* 2012; 65: 593–4.

van Mens TE, Levi M, Middeldorp S. Evolution of Factor V Leiden. *Thromb Haemost* 2013; 110 (1).

van Oijen MG, Laheij RJ, Peters WH, Jansen JB, Verheugt FW; BACH study. Association of aspirin use with vitamin B12 deficiency (results of the BACH study). *Am J Cardiol* 2004; 94: 975-977.

van Oijen MG, Sipponen P, Laheij RJ, Verheugt FW, Jansen JB. Gastric status and vitamin B12 levels in cardiovascular patients. *Dig Dis Sci* 2007; 52: 2186-9.

van Oijen MG, Vlemmix F, Laheij RJ, Paloheimo L, Jansen JB, Verheugt FW. Hyperhomocysteinaemia and vitamin B12 deficiency: the long-term effects in cardiovascular disease. *Cardiology* 2007; 107 (1): 57-62.

van Wijngaarden PJ, Dhonukshe-Rutten RAM, van Schoor NM. Dietary intake of folate, but not vitamin B2 or B12, is associated with increased bone mineral density in frail elderly women but not in men. *J Nutr* 2003; 133: 801-807.

Vargas-Ruiz AG, Hernández-Rivera G, Herrera MF. Prevalence of iron, folate, and vitamin B12 deficiency anemia after laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass. *Obes Surg* 2008; 18 (3): 288-93.

Vázquez-Pedrazuela MC, Cantón Alvarez MB, Fuente Hontañón MC, Soloaga Morales A, Collazos del Castillo JM, Sertal Parcero M. El déficit de vitamina B12 y ácido fólico en la población mayor de 65 años: estudio descriptivo. *Rev Esp Geriatr Gerontol* 2012. doi:10.1016/j.regg.2012.02.007.

Vega de Céniga M, Bravo E, Izaguirre M, Casco C, Estallo L, Esteban M, Barba A. Anaemia, iron and vitamin deficiencies in patients with peripheral arterial disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2011; 41: 828-30.

Ventura P, Panini R, Verlato C, Scarpetta G, Salvioli G. Hyperhomocysteinemia and related factors in 600 hospitalized elderly subjects. *Metabolism* 2001; 50 (12): 1466-71.

Veeranna V, Zalawadiya SK, Panaich S, Patel KV, Afonso L. Comparative analysis of red cell distribution width and high sensitivity C-reactive protein for coronary heart disease mortality prediction in multi-ethnic population: Findings from the 1999-2004 NHANES. *Int J Cardiol* 2013; 168 (6): 5156-61.

Viña Rodríguez JJ, Santolaria F, Martínez-Riera A, González-Reimers E, de la Vega Prieto MJ, Alemán Valls MR. et al. Clinical significance of homocysteine in elderly hospitalized patients. *Met Clin and Exp* 2006; 55: 620– 627.

Vitale G, Barbaro F, Ianiro G, Cesario V, Gasbarrini G, Franceschi F. et al. Nutritional aspects of *Helicobacter pylori* infection. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2011; 57 (4): 369-77.

Vogiatzoglou A, Smith AD, Nurk E, Berstad P, Drevon CA, Ueland PM. et al. Dietary sources of vitamin B-12 and their association with plasma vitamin B-12 concentrations in the general population: the Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr* 2009; 89 (4): 1078-87.

Vollset SE, Igland J, Jenab M, Fredriksen A, Meyer K, Eussen S. et al. The association of gastric cancer risk with plasma folate, cobalamin, and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; 16 (11): 2416-24.

Wahlin A, Bäckman L, Hulthén J, Adolfsson, Nilsson LG. Reference values for serum levels of vitamin B12 and folic acid in a population-based sample of adults between 35 and 80 years of age. *Publ Health Nutr* 2002; 5: 505-511.

Wald DS, Law M, Morris JK. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. *BMJ* 2002; 325 (7374): 1202.

Waldmann A, Koschizke JW, Leitzmann C, Hahn A. Homocysteine and cobalamin status in German vegans. *Public Health Nutr* 2004; 7 (3): 467-72.

Walker PF, Vitamin B12 deficiency in resettled Bhutanese refugees--United States, 2008-2011. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011; 60 (11): 343-6.

Walter LC, Brand RJ, Counsell SR, Palmer RM, Landefeld CS, Fortinsky RH. et al. Development and validation of a prognostic index for 1-year mortality in older adults after hospitalization. *JAMA* 2001; 285: 2987–94.

Wang HX, Wahlin A, Basun H, Fastbom J, Winblad B, Fratiglioni L. Vitamin B(12) and folate in relation to the development of Alzheimer's disease. *Neurology* 2001; 56 (9): 1188-94.

Wang YH, Yan F, Zhang WB. An investigation of vitamin B12 deficiency in elderly inpatients in a neurology department. *Neurosci Bull* 2009; 25: 209–215.

Waśkiewicz A, Sygnowska E, Broda G. Homocysteine concentration and the risk of death in the adult Polish population. *Kardiol Pol* 2012; 70 (9): 897-902.

Watanabe F. Vitamin B12 sources and bioavailability. *Exp Biol Med* (Maywood) 2007; 232 (10): 1266-74.

Weikert C, Dierkes J, Hoffmann K, Berger K, Drogan D, Klipstein-Grobusch K. et al. B vitamin plasma levels and the risk of ischemic stroke and transient ischemic attack in a German cohort. *Stroke* 2007; 38 (11): 2912-8.

Weiss G, Goodnough LT. Anemia of chronic disease. *N Engl J Med* 2005; 352: 1011–1023.

Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 1998; 338 (15): 1042-50.

Welsh P, Lowe GDO, Chalmers J, Campbell DJ, Rumley A, Neal BC. et al. Associations of proinflammatory cytokines with the risk of recurrent stroke. *Stroke* 2008; 39: 2226–2230.

Weng SC. A systematic review of Vitamin B12 deficiency. SFP 2008; 34 (2): 51-57.

Whyte EM, Mulsant BH, Butters MA, Qayyum M, Towers A, Sweet RA. et al. Cognitive and behavioral correlates of low vitamin B12 levels in elderly patients with progressive dementia. Am J Geriatr Psychiatry 2002; 10 (3): 321-7.

Wiersinga WJ, de Rooij SE, Huijmans JG, Fischer C, Hoekstra JB. Diagnosis of vitamin B12 deficiency revised. Ned Tijdschr Geneesk 2005; 149 (50): 2789-94.

Wilcken B, Bamforth F, Li Z, Zhu H, Ritvanen A, Renlund M. et al. Geographical and ethnic variation of the 677C>T allele of 5, 10 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): findings from over 7000 newborns from 16 areas world wide. J Med Genet 2003; 40: 619–625.

Wile DJ, Toth C. Association of metformin, elevated homocysteine, and methylmalonic acid levels and clinically worsened diabetic peripheral neuropathy. Diabetes Care 2010; 33: 156–61.

Willems FF, Aengevaeren WRM, Boers GHJ, Blom HJ, Verheugt FWA. Coronary endothelial function in hyperhomocysteinemia: improvement after treatment with folic acid and cobalamin in patients with coronary artery disease. J Am Coll Cardiol 2002; 40: 766–772.

Willis CD, Elshaug AG, Milverton JL, Watt AM, Metz MP, Hiller JE; ASTUTE Health Study Group. Diagnostic performance of serum cobalamin tests: a systematic review and meta-analysis. Pathology 2011; 43 (5): 472-81.

Wolters M, Hermann S, Hahn A. B vitamin status and concentrations of homocysteine and methylmalonic acid in elderly German women. Am J Clin Nutr 2003; 78: 776-782.

Wolters M, Ströhle A, Hahn A. Cobalamin: a critical vitamin in the elderly. Preven Med 2004; 34: 1256-126.

Wong YY, Almeida OP, McCaul KA, Yeap BB, Hankey GJ, van Bockxmeer FM. et al. Elevated homocysteine is associated with poorer self-perceived physical health in older men: the Health in Men Study. *Maturitas* 2012; 73 (2): 158-63.

Wong YY, Almeida OP, McCaul KA, Yeap BB, Hankey GJ, Flicker L. Homocysteine, frailty, and all-cause mortality in older men: the health in men study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2013; 68 (5): 590-8.

Wright JD, Bialostosky K, Gunter EW, Carroll MD, Najjar MF, Bowman BA. et al. Blood folate and vitamin B12: United States, 1988-94. *Vital Health Stat* 11. 1998; (243): 1-78.

Wulffele MG, Kooy A, Lehert P, Bets D, Ogterop JC, Borger van derBurg B, et al. Effects of short-term treatment with metformin on serum concentrations of homocysteine, folate and vitamin B12 in type2 diabetes mellitus: a randomized, placebo-controlled trial. *J Intern Med* 2003; 254 (5): 455-63.

Xavier JM, Costa FF, Annichino-Bizzacchi JM, Saad ST. High frequency of vitamin B12 deficiency in a Brazilian population. *Public Health Nutr* 2010; 13 (8): 1191-7.

Xiu LL, Lee MS, Wahlqvist ML, Chen RC, Huang YC, Chen KJ. et al. Low and high homocysteine are associated with mortality independent of B group vitamins but interactive with cognitive status in a free-living elderly cohort. *Nutr Res* 2012; 32 (12): 928-39.

Yacut M, Ustün Y, Kabaçam G, Soykan I. Serum vitamin B12 and folate status in patients with inflammatory bowel diseases. *Eur J Intern Med* 2010; 21 (4): 320-3.

Yajnik CS, Deshpande SS, Lubree HG, Naik SS, Bhat DS, Uradey B et al. Vitamin B12 deficiency and hyperhomocysteinemia in rural and urban Indians. *J Assoc Physicians India* 2006; 54: 775-82.

Yakub M, Moti N, Parveen S, Chaudhry B, Azam I, Iqbal MP. Polymorphisms in MTHFR, MS and CBS Genes and Homocysteine Levels in a Pakistani Population. PLoS ONE 2012; 7 (3): e33222. doi:10.1371/journal.pone.0033222.

Yang B, Liu Y, Li Y, Fan S, Zhi X, Lu X. et al. Geographical distribution of MTHFR C677T, A1298C and MTRR A66G gene polymorphisms in China: findings from 15357 adults of Han nationality. PLoS One 2013; 8 (3): e57917. doi: 10.1371/journal.pone.0057917.

Yang Q, Bailey L, Clarke R, Flanders WD, Liu T, Yesupriya A. Prospective study of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) variant C677T and risk of all-cause and cardiovascular disease mortality among 6000 US adults. Am J Clin Nutr 2012; 95 (5): 1245-53.

Yao Y, Yao SL, Yao SS, Yao G, Lou W. Prevalence of vitamin B12 deficiency among geriatric outpatients. J Fam Pract 1992; 35 (5): 524-8.

Yetley EA, Pfeiffer CM, Phinney KW, Bailey RL, Blackmore S, Bock JL. et al. Biomarkers of vitamin B12 status in NHANES: a roundtable summary. Am J Clin Nutr 2011; 94: 313S-321S.

Yuan W, Li Y, Yang K, Ma B, Guan Q, Wang D. et al. Iron deficiency anemia in Helicobacter pylori infection: meta-analysis of randomized controlled trials. Scand J Gastroenterol 2010; 45: 665-76.

Yüksel S, Uslan, Acartürk G, Çölbay M, Karaman Ö, Maralcan M. et al. A retrospective evaluation of patients with vitamin B12 deficiency. Bakirköy Tıp Dergisi 2006; 2: 126-129.

Zalawadiya SK, Veeranna V, Panaich SS, Afonso L, Ghali JK. Gender and ethnic differences in red cell distribution width and its association with mortality among low risk healthy United state adults. Am J Cardiol 2012; 109 (11): 1664-70.

Zeitlin A, Frishman WH, Chang CJ. The association of vitamin b 12 and folate blood levels with mortality and cardiovascular morbidity incidence in the old old: the Bronx aging study. *Am J Ther* 1997; 4 (7-8): 275-81.

Zhou SJ, Gibson RA, Gibson RS, Makrides M. Nutrient intakes and status of preschool children in Adelaide, South Australia. *Med J Aust* 2012; 196 (11): 696-700.

Zittan E, Preis M, Asmir I, Cassel A, Lindenfeld N, Alroy S et al. High frequency of vitamin B12 deficiency in asymptomatic individuals homozygous to MTHFR C677T mutation is associated with endothelial dysfunction and homocysteinemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 293 (1): H860-5.

Zittoun J, Zittoun R. Modern clinical testing strategies in cobalamin and folate deficiency. *Semin Hematol* 1999; 36 (1): 35-46.

Zittoun J. Biermer's disease. *Rev Prat* 2001; 51 (14): 1542-6.

Zorlu A, Bektasoglu G, Guven FM, Dogan OT, Gucuk E, Ege MR, et al. Usefulness of admission red cell distribution width as a predictor of early mortality in patients with acute pulmonary embolism. *Am J Cardiol* 2012; 109: 128–34.

Zsóri KS, Csiki Z, Katona E. Vitamin B12 level in peripheral arterial disease. *J Thromb Thrombolysis* 2013; 36: 77–83.

H. ANEXOS

1. INDICE DE ABREVIATURAS

5,10-MTHFR: Enzima 5-10-Metilentetrahidrofolato reductasa.

ADE: Ancho de distribución eritrocitario.

ADN: Acido dexosirribonucleico.

AF: Acido fólico.

AFe: Anemia ferropénica.

AMM: Acido metilmalónico.

ANTI-H2: Antagonistas de los recetores de la histamina tipo 2.

AP: Anemia perniciosa.

ARN: Acido ribonucleico.

ARA-2: Antagonistas de los receptores de la angiotensina tipo 2.

ATPasa: Enzima adenosilpirofosfatasa.

BGYRL: Bypass gástrico en Y de Roux vía laparoscópica.

BT: Bilirrubina total.

C: Citosina.

C: Controles.

Cbl: Cobalamina.

CBS: Cistationina B Sintasa.

CC: Forma genotípica normal del polimorfismo del gen de la enzima Metilen tetrahidrofolato reductasa (MTHFR).

CN-Cbl: Ciano-Cobalamina.

Co⁺⁺: Cobalto.

CoA: Coenzima A.

CT: Forma genotípica normal del polimorfismo del gen de la enzima Metilen tetrahidrofolato reductasa (MTHFR).

D: Centro de día.

DHFR: Enzima Dihidrofolato Reductasa.

DM-2: Diabetes mellitus tipo 2.

DLP: Dislipemia.

E: Estudio.

EAC: Enfermedad arterial coronaria.

EAP: Enfermedad arterial periférica.

ECV: Enfermedad cerebrovascular.

E. HOME: Hyperinsulinaemia the Outcome of its Metabolic Effects Study.

EII: Enfermedad inflamatoria intestinal.

EM: Edad media.

ERC: Enfermedad renal crónica.

ESVITAF: Survey on the vitamin status of the French.

ETAI: Enfermedad tiroidea autoinmune.

ETV: Enfermedad trombótica venosa.

EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

EURONUT-Seneca: Survey in Europe on nutrition and the elderly, a concerted action.

FA: Fibrilación auricular.

Fe: Hierro sérico.

FI: Factor intrínseco.

GGT: Enzima gamma-glutamyl transpeptidasa.

GPX: Enzima glutathione peroxidasa.

H: Hombres.

H⁺: Hidrógeno.

Hb: Hemoglobina.

HCl: Acido clorhídrico.

Hcy: Homocisteína.

HDA: hemorragia digestiva alta.

HDL: Lipoproteínas de alta densidad.

Hhcy: Hiperhomocisteinemia.

HP: Helicobacter Pylori.

HSP-70: del inglés, heat shock proteins.

HTA: Hipertensión arterial.

HoloTC: Holotranscobalamina.

Hto: Hematocrito.

I: Institucionalizados.

IAM: Infarto agudo de miocardio.

IBP: Inhibidores de la bomba de protones.

ICC: Insuficiencia cardiaca congestiva.

IECA: Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina.

IL: Interleucina.

IST: Índice de saturación de la transferrina.

ITU: Infección del tracto urinario.

K⁺: Potasio.

M: mujeres.

MAT: Enzima Metionina adenosiltransferasa.

MCP-1: del inglés, monocyte chemoattractant protein-1.

MS: Metionin Sintasa.

NHANES: del inglés, National Health and Nutrition Examination Survey.

NF-kappa B: del inglés, nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells.

NS: No significación estadística.

LDH: Lactado deshidrogenasa.

LDL: Lipoproteínas de baja densidad.

LM: Lesionados medulares.

OH-Cbl: Hidroxi-Cobalamina.

O: Omnívoros.

OR: Odds ratio.

P: Proteínas animales.

P: Pacientes.

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa.

Pctes NRL: Pacientes con patologías neurológicas.

PN: Polineuropatía.

PPAR α : Receptores activados de proliferación de los peroxisomas tipo α .

R: Proteína R.

RR: Riesgo relativo.

RTI: Reconstrucción del tránsito intestinal.

SAM: Enzima Adenosil Metionina.

SALSA: Sacramento Area Latino Study on Aging.

Sdr: Síndrome.

SCA: Síndrome coronario agudo.

sICAM-1: Moléculas de adhesión intercelular solubles.

SNP: del inglés, simple nucleotide polymorphism

SMA: Síndrome de malabsorción alimentaria.

T: Timina.

T4L: Tiroxina libre.

TC: Transcobalamina.

THF: Tetrahidrofolato.

TI: Tiroiditis de Hashimoto.

TNF: Factor de necrosis tumoral.

TSH: Hormona tiroestimulante.

TT: Forma genotípica anómala del polimorfismo del gen de la enzima Metilen tetrahidrofolato reductasa (MTHFR).

TVP: Trombosis venosa profunda.

TX: Tromboxano.

UCI: Urticaria crónica idiopática.

V: Vegetarianos.

VCAM: del inglés, vascular cell adhesion molecule 1.

VCM: Volumen corpuscular medio.

VHC: Virus de la hepatitis C.

VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana.

vWF: del inglés, von Willebrand factor.

Vx: Veganos estrictos.

