

ACADEMIA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DE SÃO JOSE DO RIO
PRETO

DEFICIÊNCIA DE VITAMINA B12 E SUAS ALTERAÇÕES
HEMATOLÓGICAS

KARLINE CALAÇA ALVES

PALMAS
JULHO/2011

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM HEMATOLOGIA E BANCO DE SANGUE

KARLINE CALAÇA ALVES

DEFICIÊNCIA DE VITAMINA B12 E SUAS ALTERAÇÕES
HEMATOLÓGICAS

Projeto de pesquisa apresentado à orientadora, objetivando a elaboração do Projeto de pesquisa destinado à produção do Trabalho de Conclusão do Curso, requisito indispensável à obtenção da Pós-Graduação em Hematologia e Banco de Sangue da Academia de Ciências e Tecnologia de São José do Rio Preto - SP.
Orientador (a): Prof.

1. INTRODUÇÃO

A vitamina B12, ou cianocobalamina, faz parte de uma família de compostos denominados geneticamente de cobalaminas, podendo apresentar diferentes ligantes, cada um conferindo um nome diferente: metil (metilcobalamina), hidroxil(hidrocobalamina), água (aquacobalamina), cianeto (cianocobalamina) e S-deoxiadenosina (deoxiadenosilcobalamina). Quimicamente, o termo vitamina B12 refere-se à hidroxicobalamina ou cianocobalamina, ainda que genericamente seja aplicado para todas as formas de cobalamina.

Em circunstâncias normais, os seres humanos dependem completamente dos produtos animais dietéticos presente em sua dieta para atender sua demanda de vitamina B12. Os microorganismos representam a origem final da cobalamina na cadeia alimentar. As plantas e as verduras contêm pouquíssimo cobalamina, exceto aquela gerada por contaminação microbiana; as dietas estritamente vegetarianas ou macrobióticas não fornecem quantidades suficientes desse nutriente essencial. A demanda diária é da ordem de 2 a 3 µg e a dieta balanceada normal contém quantidades muito maiores. As reservas no organismo, quando plenamente mantidas, são suficientes para vários anos.

A vitamina B12 (cobalamina), presente em produtos de origem animal, como carne e leite, é ingerida e liberada dos alimentos pela digestão no nível do estômago, onde se associa a um ligante denominado *ligante R gástrico*. A digestão do complexo cobalamina-ligante R gástrico libera a cobalamina, que se associa, por sua vez, a uma glicoproteína produzida pelas células parietais da mucosa gástrica denominada de *fator intrínseco*. No íleo terminal, o complexo cobalamina-fator intrínseco encontra receptores específicos e ocorre internalização pelas células da mucosa ileal, nas quais a cobalamina se dissocia do fator intrínseco e se liga à transcobalamina II. O complexo cobalamina-transcobalamina II é liberado na circulação, de onde é rapidamente removido pelo fígado, pela medula óssea e por outros órgãos.

Existem somente duas reações no homem conhecida por necessitarem de vitamina B12. Metiltransferase, envolvidas na conversão da homoscisteína em metionina. No processo, a metilcobalamina libera seu grupo metílico e é regenerada a partir do ácido 5 metiltetraidrofóbico (5metil-FH4), a forma principal do ácido fólico no plasma, o qual por sua vez é transformado em ácido tetraidrofólico (FH4). O FH4 é de crucial importância, pois é necessário (através de seu derivado 5,10 metileno (FH4) para a conversão do monofosfato de

deoxiuridina (dUMP) em monofosfato de deoxitimida (dTMP), a qual é um precursor imediato do DNA. Tem sido postulado que a causa fundamental do distúrbio da síntese do DNA na deficiência da B12 é a reduzida disponibilidade de FH4, visto que a sua maior parte é “presa” na forma de 5 metil-FH4. Embora a hipótese do aprisionamento do metiltetraidrofolato seja apoiada por alguma evidência experimental, essa questão não está resolvida. Outros investigadores têm sugerido uma explicação alternativa que pode explicar melhor a hipótese da fome de formiato. De acordo com essa opinião, a deficiência “interna” de folato resultante da falta de vitamina B12 é principalmente devida não ao seqüestro do tetraidrofolato, mas a uma falha na síntese das formas poliglutamato de folato metabolicamente ativas. A síntese dos poliglutamatos do folato exige os grupos de formiato de carbono isolados oriundo da metionina, a qual por sua vez é gerada pela reação dependente da vitamina B12. Na hipótese da falta de formiato, a importância da vitamina B12 é deslocada do seu papel na geração de FH4 para a formação de metionina, que age como fonte de formiato. Com a formação tanto do FH4 como da metionina depende da disponibilidade de vitamina B12, ambas as hipóteses não são mutuamente excludentes, mas as suas relativas contribuições para a origem de anemias megaloblásticas ainda permanecem para ser esclarecidas.

A deficiência de vitamina B12 é a causa mais importante de anemia megaloblástica, situação em que há redução da eritropoiese, que se caracteriza por perturbação na síntese do DNA, conseqüentemente levando a um desarranjo da proliferação ou amadurecimento das células eritróides. As anemias megaloblásticas constituem um grupo diferente de entidades, tendo em comum um padrão típico no sangue e na medula óssea. Como o nome diz, os precursores eritróides e as hemácias são normalmente grandes, acreditando-se estarem relacionados com distúrbios do amadurecimento e divisão celular. Uma deficiência dessa vitamina ou um distúrbio na sua utilização resulta em síntese inadequada ou perturbada do DNA. Entretanto, a síntese do RNA e da proteína não é afetada, de tal forma que há um aumento citoplasmático não compensado pela síntese do DNA, que parece retardar ou bloquear a divisão mitótica. Duas conseqüências têm origem desse distúrbio celular: eritropoiese ineficaz e produção de eritrócitos anormais com tendência a destruição hemolítica.

Nos casos de anemia megaloblástica por deficiência de vitamina B12 secundária à deficiência da produção de fator intrínseco pelas células parietais da mucosa gástrica (anemia perniciosa), está associadas à gastrite crônica atrófica, mas sua origem ainda é desconhecida.

A atrofia da mucosa é marcada por perda das células parietais, proeminente infiltrado de leucócitos e plasmócitos, além de alterações nucleares megalóides e atípicas nas células da mucosa semelhante às encontradas na medula óssea. Varias reações imunológicas estão associadas com essas alterações morfológicas. Três tipos de anticorpos encontram-se presentes em muitos, mas não em todos os pacientes portadores da anemia perniciosa. Cerca de 75% dos pacientes têm um anticorpo que bloqueia B12-FI (fator intrínseco), chamando anticorpo bloqueador. No soro, esses anticorpos são predominantemente IgG, mas podem também ter a forma de IgA. Eles também podem encontrados no suco gástrico, mas aqui os anticorpos IgA predominam. Um segundo tipo, conhecido como anticorpo combinador, reage tanto com o fator intrínseco (FI) como com o complexo FI-B12, e é encontrado em cerca de 50% dos pacientes.

Eles encontram-se presentes no soro e no suco gástrico e podem ser também identificados por técnicas imunofluorescentes nos plasmócitos da mucosa gástrica. O terceiro tipo de anticorpo, presente em 85 a 95% dos pacientes, localiza-se microvilosidades do sistema canalicular da célula parietal gástrica e algumas vezes é conhecido como anticorpo canalicular parietal. Entretanto, alguns pacientes não possuem nenhum desses anticorpos, e isso tem dirigido a atenção para possíveis respostas imune mediada celularmente. Embora em alguns pacientes existam evidências de reações celulares-T ao fator intrínseco, a frequência dessas reações ainda não foram estabelecidos. Em vista de todas as anormalidades imunológicas considera-se bastante provável que a anemia perniciosa seja uma doença imunológica e que os auto-anticorpos estão causalmente relacionados com a má absorção de vitamina B12. Varias observações dão apoio a essa opinião: o auto-anticorpo gástrico esta presente na maioria dos pacientes, como discutido anteriormente; os anticorpos canaliculares parietais são fixadores de complemento e desta forma podem lesar as células parietais gástricas; os anticorpos podem ser sintetizados na mucosa gástrica e inibir a absorção da vitamina B12; existe significativa associação entre a anemia perniciosa e as enfermidades auto-imunes que afetam a tireóide e as glândulas adrenais; existe maior frequência de anticorpos séricos contra o fator intrínseco nos pacientes com outras doenças auto-imunes.

Deve ser mencionado, entretanto, que os anticorpos canaliculares parietais não são absolutamente específicos para a anemia perniciosa ou outras doenças auto-imunes. Eles podem ser encontrados em até cerca de 50% dos pacientes idosos com gastrite crônica idiopática não associada com anemia perniciosa. Possivelmente, em tais casos eles resultam s

Na deficiência de vitamina B12 podem ocorrer também complicações neurológicas que constituem enigma ainda maior. Com a administração do ácido fólico, que alivia a anemia megaloblástica da deficiência de vitamina B12, não melhora o déficit neurológico, não deve haver deficiência interna de folato. Anteriormente foi mencionado que somente duas reações no homem são conhecidas como necessitando a B12. Além da reação de transmetilação discutida anteriormente, a cobalamina também faz parte da isomerização da metilmalonil coenzima A em succinil coenzima A, necessitando a adenosil-cobalamina como um grupo prostético na enzima metilmalonil-CoA-mutase. Assim, uma deficiência de vitamina B12 leva a maiores níveis de metilmalonato, excretado na urina na forma de ácido metilmalônico. Uma interrupção na via de succinil com acúmulo de maiores níveis de metilmalonato e propionato (um precursor) poderia levar a formação de ácido graxo anormal que poderiam ser incorporados aos lipídios neuronais. Essa anormalidade bioquímica poder predispor à degradação da mielina e dessa forma produzir algumas das complicações neurológicas da deficiência de B12.

Os achados hematológicos da deficiência de vitamina B12 são indistinguíveis. Os achados característicos na distensão sangüínea são anemia, macrocitose, anisocitose, poiquilocitose (incluindo presença de macrovalócito e de dacriócitos) e hipersegmentação dos neutrófilos. A hipersegmentação não é invariavelmente presente, mas, na ausência, a cromatina mostra-se mais aberta do que o normal. Os macrófagos não apresentam palidez central devido ao diâmetro e a espessura aumentada. Também podem estar presentes eosinófilos hipersegmentados, macropolíctos (neutrófilos hipersegmentados) e pontilhados basófilos. À medida que a anemia se agrava, há aumento progressivo da anisocitose e da poiquilositose, com aparecimento de micrócitos e fragmentos. Podem ser vistos micrócitos e fragmentos hipocrômicos, o que é um aspecto de diseritropoiese (desordem na produção e formação dos eritrócitos), e não de deficiência de ferro coexistentes. Podem surgir pequenos números de corpos de Howel-Jolly, de megaloblastos e de precursores granulocíticos na circulação. As contagens de leucócitos e plaquetas diminuem, com o desenvolvimento de moderada neutropenia e leve linfopenia.

Geralmente não se nota policromatocitose, apesar da anemia severa, e a contagem de reticulócitos é baixa. Quando a anemia megaloblástica desenvolve-se de forma aguda, pode haver insuficiência súbita da liberação de células pela medula óssea, causando pancitopenia, com VCM normal, e ausência ou número pequeno de macrácitos e neutrófilos hipersegmentados; a policromatocitose está ausente e a contagem de reticulócitos é muito

baixa. Em indivíduos com achados hematológicos mínimos de deficiência de vitamina B12 ou ácido fólico, como em alguns pacientes que se apresentam com as complicações neurológicas da deficiência de vitamina B12, os achados hematológicos podem resumir-se a macrocitoses ocasionais, ovais ou redondos, e neutrófilos hipersegmentados. Às vezes, a macrocitose esta associada a sinais proeminentes de hipoesplenismo, particularmente à presença de corpúsculo de Pappenheimer e de corpos de Howell-Jolly grandes e numerosos; em pacientes não – esplenectomizado, esses achados sugerem doença celíaca subjacente, com atrofia esplênica, como causa de deficiência de vitamina B12 ou, mais freqüentemente, de deficiência de folato.

Quando coexiste deficiência de ferro e de deficiência de vitamina B12 ou de ácido fólico, as características da distensão sangüínea são variáveis. Além dos macrócitos, podem estar presentes micrócitos hipocrômicos ou podem predominar os aspectos característicos da deficiência de ferro, sendo a deficiência dupla sugerida apenas pela presença de neutrófilos hipersegmentados; note-se que estes podem ser vistos mesmo na deficiência de ferro não-complicada ou ter outras causas. Às vezes, a deficiência de ferro é descoberta quando o paciente com anemia megaloblástica e reservas inadequadas de ferro é tratado com vitamina B12 ou ácido fólico. Após elevação inicial da hemoglobina e produção de células adequadamente hemoglobinizadas, esgotam-se os estoque de ferro, são produzidos micrócitos hipocrômicos e a distensão sangüínea torna-se dimórfica. O traço talassêmico, da mesma forma que a deficiência de ferro, pode inibir o desenvolvimento de macrocitose na anemia megaloblástica. O VCM pode subir para a faixa normal, em vez de acima desta.

Quando um paciente com anemia megaloblástica inicia o tratamento com a vitamina apropriada passam-se 3 a 4 dias sem modificação hematológica aparente, após os quais o hemograma passa a mostrar rápido aumento das contagens de leucócitos e plaquetas, seguido pela aparição de macrócitos policromático e rápido aumento da hemoglobina. Se o paciente esteve pancitopênico, pode apresentar trombocitose de rebote, freqüentemente associada a desvio à esquerda ou a aspecto leucoeritroblástico. Neutrófilos hipersegmentados persistem no sangue durante 5 a 7 dias ou mais; em pacientes citopênicos, estes podem até aumentar por alguns dias.

O eritrograma mostra baixa de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito. Há aumento do VCM e da HCM. A CHCM é normal e a RDW, aumentada. O aumento da RDW antecede o do VCM. À medida que a anemia se agrava, a aparição de severa poiquilocitose, acompanhada de fragmentação eritrocitária, pode levar a uma diminuição paradoxal do VCM; a RDW torna-se, então, muito elevada. Nos instrumentos atuais da série Bayer H.1 e Advia, a

anemia megaloblástica associa-se a aumento da HDW, a aumento do índice médio de peroxidase (MPXI) (indicador aumentado da atividade média de peroxidase dos neutrófilos) e a redução no índice lobularidade (indicando uma estrutura imatura de cromatina nuclear). Em contadores de impedância, o VPM permanece relativamente baixo quando a trombocitopenia é causada por anemia megaloblástica e aumenta quando a trombocitopenia resulta de redução da sobrevida plaquetária.

2. OBJETIVO

- Estabelecer as condições em que ocorre uma deficiência de vitamina B12
- Qual dano que essa deficiência acarreta em nosso organismo (anemia megaloblástica)
- Que alterações provocam no hemograma

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizada uma Revisão Bibliográfica, para coleta de dados em publicações de literaturas técnicas com a experiência dos autores, que atuam nas áreas.

4. RESULTADOS

A vitamina B12, ou cianocobalamina, faz parte de uma família de compostos denominados genericamente de cobalaminas é uma vitamina hidrossolúvel, sintetizada exclusivamente por microrganismo, encontrada em praticamente todos os tecidos animais e estocada primariamente no fígado na forma de adenosilcobalamina. A fonte natural de vitamina B12 na dieta humana restringe-se a alimentos de origem animal, especialmente leite, carne e ovos.

As alterações hematológicas típicas da deficiência de vitamina B12 são caracterizadas por diminuição de hemoglobina, caracterizando anemia, que tem como um dos principais aspectos a presença de macroovalócitos, neutrófilos hiper-segmentados e hiperplasticidade na medula óssea com maturação anormal, representando uma anemia megaloblástica. Podem-se observar também baixas contagens plaquetárias.

Os níveis de vitamina B12 séricos são considerados baixos quando sua concentração é inferior a 200pg/ml. A medida de vitamina B12 sérica é o teste mais comumente utilizado para diagnosticar deficiência de vitamina B12, por ter menor custo e ser mais conhecida. Porém, a dosagem de vitamina B12 sérica apresenta limitações de sensibilidade e muitas controvérsias sobre sua especificidade.

Além disso, sofre influência direta das concentrações de proteínas ligantes (transcobalaminas), sendo, deste modo, um indicador pobre dos níveis de vitamina B12 realmente disponíveis para a célula. Falsos aumentos são causados por desordens mieloproliferativas, e valores falsamente diminuídos podem ser encontrados na deficiência de folatos, na gravidez e em deficiências de Tc.

Os níveis séricos de vitamina B12 encontram-se normais numa significativa minoria de pacientes com deficiência desta vitamina e, ainda, segundo esses autores, a medida de alguns metabólitos da vitamina, como MMA e Hcy no soro, facilitaria a identificação da deficiência nesses indivíduos.

Quando presentes os sintomas clínicos da deficiência, em 97% dos casos os níveis de vitamina B12 estão abaixo dos valores de referência (< 200ng/l; < 148pmol/l), demonstrando que este teste ainda encontra utilidade quando aplicado a pacientes sintomático. Mesmo que

apresente limitações de especificidade e sensibilidade, nenhum outro substituto para esta metodologia é ainda universalmente aceito.

Estudos recentes utilizando os metabólitos MMA e Hcy confirmaram que baixas concentrações de vitamina B12 em pacientes assintomáticos ou aparentemente saudáveis representavam uma relevante insuficiência funcional dessa vitamina, e não um resultado falsamente diminuído como se pensava. Além disso, a correção de diversos problemas técnicos com os radioensaios utilizados, a melhor definição do intervalo de referência e a introdução de ensaios mais sensíveis e específicos utilizando imunoensaios, entre outros, têm conferido maior confiabilidade para detectar deficiências de vitamina B12 em pacientes sintomáticos, embora não exista método de consenso para dosagem de vitamina B12 por apresentarem, os existentes, grande variações de desempenho entre si.

Alguns dos métodos mais utilizados incluem ensaios microbiológicos e radioisotópico cinéticos e, mais recentemente, imunoensaios por quimioluminescência, radioimunoensaios, ensaios imunoenzimáticos, imunoensaios fluorimétricos, entre outros.

5. CONCLUSÃO

A deficiência de vitamina B12 inibe a função da metionina sintase e da L metilmalonil-coA mutase, gerando Hcy e comprometendo as reações de metilação que levarão ao desenvolvimento de patologias principalmente cérebro e cardiovasculares de diferentes graus de severidade, podendo até mesmo tornar-se irreversíveis. Além disso, deficiências subclínicas da vitamina B12 podem contribuir silenciosamente para problemas cardíacos e neurológicos. o diagnóstico laboratorial ainda não é simples, embora novas metodologias e estratégias estejam surgindo. Um diagnóstico correto e precoce é um desafio, e estudos são necessários para definir método padrão para diagnóstico laboratorial da deficiência de vitamina B12.

6. RESUMO

A vitamina B12 é hidrossolúvel, não-sintetizada pelo organismo humano, presente em alimentos de origem animal. Sua deficiência é muito freqüente entre idosos, vegetarianos e indivíduos que adotam baixa dieta protéica ou apresentam problemas de absorção gastrointestinal. A deficiência de vitamina B12 leva a transtornos hematológicos, neurológicos e cardiovasculares, principalmente, por interferir no metabolismo da homocisteína (Hcy) e nas reações de metilação do organismo. Muitas vezes a deficiência pode permanecer assintomática por longos períodos, desencadeando uma deficiência crônica que, se mantida, pode levar a manifestações neurológicas irreversíveis. Utilizar metodologias eficientes que permitam um diagnóstico precoce são imprescindíveis. A dosagem sérica de vitamina B12 sofre algumas restrições pelos problemas de sensibilidade e especificidade, podendo ocorrer sintomas de deficiência mesmo com vitamina B12 sérica dentro dos níveis normais ou, de outro modo, ocorrendo baixos níveis de vitamina B12 sérica sem, contudo, apresentar baixos níveis da fração de vitamina realmente disponível para as células e sem apresentar sintomatologia. Novas alternativas vêm surgindo, como a dosagem de transcobalamina II (Tc II), a única fração de vitamina B12 disponível para as células, ou a dosagem de ácido metilmalônico (MMA) e Hcy, metabólitos que aumentam quando ocorre diminuição de vitamina B12 intracelular. Estes testes apresentam algumas vantagens, mas também limitações importantes para uso rotineiro.

7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ALLEN, R. H. et al. **Metabolic abnormalities in cobalamin (vitaminB12) and folate deficiency.** FASEB J, v. 7, n. 14, p. 1344-53, 1993

ANDRES, E. et al. **Vitamin B12 (cobalamin) deficiency in elderly patients.** CMAJ, v. 171, n. 3, p. 251-9, 2004.

BAIN B.J. **Células Sanguíneas Um Guia Prático;** 4 edicao;; Porto Alegre Artmed, 2007.

CARMEL, R. et al. **Update on cobalamin, folate, and homocysteine.** Hematology (Am Soc Hematol Educ Program), p. 62-81, 2003.

CECIL **Tratado de Medicina Interna,** L. Goldman, D. Ausiello, Editora Elsevier, 23ª, Edição, 2009.

CHANARIN, I.; METZ, J. **Diagnosis of cobalamin deficiency: the old and the new.** Br J Haematol, v. 97, n. 4, p. 695-700, 1997

COTRAN, R.S., KUMAR, V. & ROBBINS, S.L. **Robbins Pathologic Basis od Disease,** 1989, 4t edition, W.B. Saunders Co.

DHARMARAJAN, T. S., ADIGA, G. U, NORKUS, E. P. Vitamin B12 deficiency. Recognizing subtle symptoms in older adults. Geriatrics, 58(3):30-38, 2003.

DONNELLY, J.G. - **Folic acid.** Lab. Sci. 2001; 38:183-223.

FISHMAN, S.M., CHRISTIAN, P., WEST, K.P. - **The role of vitamins in the prevention and control of anemia.** Public Health Nutr 2000; 3:125-50.

FRANCO **Tabela de Composição Química dos Alimentos.** 9 ed. São Paulo: Atheneu, 1998.

GIGLIO, A. D. e KALIKS R. **Princípios de Hematologia Clínica.** Editora Manole Ltda 1ª edição, 2006.

GILLHAM, B.; PAPACHRISTODOULOU, D. K.; THOMAS, J. H. Wills': **Biochemical basis of medicine.** 3. ed. Oxford: Reed Educational and Professional Publishing Ltd, 1997. Cap. 22, p. 196-202

GUIMARÃES V. C. M, AIDAR F. F., FIGUEIREDO, M. S. **Anemias carênciais** 58(n.esp): 41:46-44-50, dez. 2001.

HENRY, J. B. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais.** 2. ed. São Paulo: Manole Ltda, 1999. Cap. 26, p. 621-5.

HERRMANN, W. et al. **Functional vitamin B12 deficiency and determination of holotranscobalamin in populations at risk.** Clin Chem Lab Med, v. 41, n. 11, p. 1478-88, 2003.

HERRMANN, W.; GEISEL, J. **Vegetarian lifestyle and monitoring of vitamin B-12 status.** Clin Chim Acta, v. 326, n. 1-2, p. 47-59, 2002

HOLLELAND, G. et al. **Cobalamin deficiency in general practice. Assessment of the diagnostic utility and costbenefit analysis of methylmalonic acid determination in relation to current diagnostic strategies.** Clin Chem, v. 45, n. 2, p. 189-98, 1999.

KALTENBACH, G., NOBLET-DICK, M., BARNIER-FIGUE, G. et al. **Early normalization of low vitamin B12 levels by oral cobalamin therapy in three older patients with pernicious anemia.** J Am Geriatr Soc, 50(11):1914-1915, 2002.

KWOK, M. D. et al. **Use of fasting urinary methylmalonic acid to screen for metabolic vitamin B12 deficiency in older persons.** Nutrition, v. 20, n. 9, p. 764-8, 2004.

LEE, G.R. - **Megaloblastic and nonmegaloblastic anemias.** In: Lee, G.R., Bithell, T.C., Foerster, J., Athens, J.W., Lukens, J.N. - Wintrobe's Clinical Hematology. 9th edition, pp. 745-90, 1993.

LINDENBAUM, J. et al. **Diagnosis of cobalamin deficiency: II. Relative sensitivities of serum cobalamin, methylmalonic acid, and total homocysteine concentrations.** Am J Hematol, v. 34, n. 2, p. 99-107, 1990.

LÖKK, J. **News and views on folate and elderly persons.** J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 58(4):354-61, 2003.

MARCAUD, V. - **Pernicious anemia.** Rev. Prat. 51: 1211-4, 2001.

MORETTI, R. et al. **Vitamin B12 and folate depletion in cognition: a review.** Neurol India, v. 52, n. 3, p. 310-8, 2004.

PANIZ, C. et al. **Physiopathology of vitamin B12 deficiency and its laboratorial diagnosis.** J. Bras. Patol. Med. Lab. [online]. 2005, vol.41, n.5, pp. 323-334. ISSN 1676-2444. <http://dx.doi.org/10.1590/S1676-24442005000500007>.

REFSUN, H. et al. **Hyperhomocysteinemia and elevated methylmalonic acid indicate a high prevalence of cobalamin deficiency in Asian Indians.** Am J Clin Nutr, v. 74, n. 2, p. 233-41, 2001.

SIC RESUMAO - **Principais Temas de Ortopedia para Residência Médica** /organizadores Atílio Gustavo Blanco Barbosa, sandriani Darine caldeira 1 edicao; são Paulo: Medcel, 2009 (coleção SIC 2010).

SNOW, C. F. **Laboratory diagnosis of vitamin B12 and folate deficiency: a guide for the primary care physician.** Arch Intern Med, v. 159, n. 12, p. 1289-98, 1999

STABLER, S. P. et al. **Clinical spectrum and diagnosis of cobalamin deficiency.** Blood, v. 76, n. 5, p. 871-81, 1990.

ZAGO, M. A.; MALVEZZI, M. **Deficiência de vitamina B12 e de folatos: anemias megaloblásticas.** In: FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. Hematologia: fundamentos e prática. São Paulo: Atheneu, 2001. Cap. 21, p. 195-210.