



DIAGNÓSTICO DA DEFICIÊNCIA, METODOLOGIAS E QUANTIDADES DIÁRIAS NECESSÁRIAS DE VITAMINA B12 E A METABOLIZAÇÃO DA HOMOCISTEÍNA



Paulo Sergio Cardoso¹, Cleber Leite^{2A}

¹Pós-graduando do curso de Fisiologia Humana da Faculdade Cléber Leite

²Docente titular da Faculdade Cleber Leite

RESUMO

Há tempos, as doenças cardiovasculares como a aterosclerose são atribuídas aos elevados níveis de colesterol, devido ao consumo de gorduras, sobretudo as saturadas. Foram atribuídos a ela os infartos do miocárdio que apareceram com mais frequência, a partir de meados do século XX. Nessa mesma época, as doenças neurológicas se multiplicaram e, com elas, vieram diagnósticos de depressão, Alzheimer, Parkinson e esclerose múltipla. Após um século do aumento das ocorrências relacionadas a doenças cardiovasculares e neurológicas e com a evolução das pesquisas, outro responsável pelo aparecimento dessas doenças foi identificado: os elevados índices de homocisteína, um aminoácido sulfurado que apresenta um grupo sulfidrílico (SH) em sua estrutura, não encontrado em nenhum alimento e que provém da desmetilação do aminoácido metionina. Com isso, surgiram questionamentos sobre a causa desse aumento. Foi descoberto que a elevação nos níveis de homocisteína se dava em virtude dos níveis insatisfatórios de ácido fólico, vitamina B₁₂, vitamina B₆ e vitamina B₂. Assim, ocorria aumento nos níveis da homocisteína quando decaíam, principalmente, as taxas do folato. Outro fato importante observado foi que, mesmo quando os níveis do folato estavam satisfatórios, a homocisteína continuava com valores acima do recomendado. Dessa forma, notou-se que a vitamina B₁₂ agia como cofator na metabolização da homocisteína, e, *juntos*, eram os principais responsáveis para que seus níveis mantivessem adequados. Levando isso em consideração, o objetivo deste artigo é mostrar a participação da vitamina B₁₂ na proteção da saúde dos seres humanos e como efetivamente isso se dá.

Palavras-chave: vitamina B₁₂, folato, metilcobalamina, homocisteína, hiper-homocisteinemia, hipocobalaminemia, doenças cardiovasculares, doenças neurológicas, Alzheimer, Parkinson, Esclerose Múltipla.

ABSTRACT

For years, cardiovascular diseases such as atherosclerosis have been attributed to high cholesterol levels, due to the consumption of fats, especially saturated fats. It was attributed to it the myocardial infarctions that appeared more frequently, from the mid-twentieth century. At the same time, neurological diseases multiplied and, with them came suspected diagnoses of depression, Alzheimer's, Parkinson's or even multiple sclerosis. After a century of increasing occurrences related to cardiovascular and neurological diseases and with the evolution of research, another responsible for the appearance of these diseases was identified: the high levels of homocysteine: a sulfur amino acid that has a sulfhydryl group (SH) in its structure, not found in any food and that

^ACleber Leite - e-mail: drcleberleitemedvet@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4650-9772>

comes from the demethylation of the amino acid methionine. As a result, questions were raised about the cause of this increase. It was found that the rise in homocysteine levels was due to unsatisfactory levels of folic acid, vitamin B₁₂, vitamin B₆, and vitamin B₂. So, there was an increase in homocysteine levels when, mainly, folate levels decreased. Another important fact observed was that, even when folate levels were satisfactory, homocysteine continued to be higher than recommended. Thus, it was noticed that vitamin B₁₂ acted as a cofactor in the metabolization of homocysteine, and together, they were the principal responsible for maintaining its adequate levels. Taking this into account, the purpose of this article is to show the role of vitamin B₁₂ in protecting the health of human beings and how this effectively works.

Keywords: vitamin B₁₂, folate, methylcobalamin, homocysteine, hyperhomocysteinemia, hypocobalaminemia, cardiovascular diseases, neurological diseases, Alzheimer's, Parkinson's, Multiple Sclerosis.

INTRODUÇÃO

A vitamina B₁₂ é um micronutriente essencial e tem a maior estrutura molecular dentre todas as vitaminas do complexo B. É hidrossolúvel, está envolvida na formação do ácido desoxirribonucleico (DNA) durante a divisão celular, também atua na maturação dos glóbulos vermelhos e possui várias funções em vias metabólicas, sendo essencial para o sistema nervoso central e periférico por estar envolvida na formação da bainha de mielina e de neurotransmissores [1]. É sintetizada, exclusivamente, através da fermentação de microrganismos, reabsorvida no organismo do ser humano na mucosa do íleo distal por endocitose para, só depois, ser levada às células e, finalmente, ser estocada primariamente no fígado na forma de adenosilcobalamina [2,3]. É a única dentre todas as vitaminas que contém não só uma molécula orgânica complexa, mas também um elemento traço essencial, o cobalto. A vitamina B₁₂ é solúvel em água e funciona como uma coenzima essencial para outras duas enzimas do corpo humano: a Metionina Sintetase (MS), que catalisa a metilação da homocisteína para metionina; e L-metilmalonil-CoA Mutase, que catalisa a conversão de Metilmalonil-CoA em Succinil CoA na mitocôndria [3,4]. Seu nome científico é cobalamina e, diferentemente das demais vitaminas do complexo B, ela é só encontrada em animais [5]. Ou seja, pessoas que, por qualquer motivo, não ingerirem alimentos provenientes de animal, tais como carne, peixe, fígado, ovo e manteiga, poderão adquirir a hipocobalaminemia – a deficiência em vitamina B₁₂.

Num trabalho apresentado, Pereda e associados (2006) apresentaram, no México, um estudo transversal não probabilístico no qual foram incluídos 100 adultos saudáveis, não institucionalizados e fisicamente independentes com mais de 60 anos de idade. Através desta pesquisa, chegaram à conclusão de que 30% dos adultos idosos eram deficientes em vitamina B₁₂, usando um ponto de corte de <150 pmol/L. Em relação ao folato, nenhum adulto idoso foi considerado deficiente; pelo contrário, uma proporção significativa (62%) tinha níveis elevados, o que sugere que a alta taxa de concentração de folato plasmático é, possivelmente, devida a alterações recentes no consumo de alimentos fortificados com ácido fólico ou ao consumo de suplementos vitamínicos.[1] Num estudo transversal, por Marín e associados (2020), feito na Colômbia, numa população de 3202 crianças que estudavam numa escolas públicas em Bogotá, de

estrato socioeconômico médio e baixo, foi detectado que 17% da população observada estava com deficiência de vitamina B₁₂ (<19,5 pmol/mL).[6] Num outro estudo, dessa vez, na cidade de Fortaleza, Brasil, feito numa enfermaria de uma clínica médica, por Cassemiro e associados (2016), durante os primeiros meses do ano de 2015, foram estudados 116 pacientes. Ficou constatado que 10 pacientes tinham deficiência de vitamina B₁₂ (8,6%) [7]. Em sua dissertação de mestrado, Coussirat (2010) estudou uma população de 545 idosos, fazendo uma revisão de prontuários de todos que tiveram pelo menos um atendimento no Ambulatório de Geriatria do Hospital São Lucas da PUCRS, no período de julho de 2005 a junho de 2010. Foi constatado que 4,40% dentre os idosos estudados tinham uma deficiência de vitamina B₁₂ (<200pg/mL); porém, se a faixa de corte subisse para <300pg/mL, a porcentagem de pessoas com deficiência aumentaria para 28,90%. A deficiência em relação ao ácido fólico foi de apenas 0,5% na população estudada [2].

A deficiência da vitamina B₁₂ pode trazer sérios transtornos neurológicos, cardíacos e hematológicos, estando-a diretamente associada à hiper-homocisteinemia, um fator independente de risco para doenças vasculares como aterosclerose e trombose; neurológicas, como retardo mental; do Sistema Nervoso Central, como a Esclerose Múltipla e outras como osteoporose e anomalia esquelética, infertilidade e esterilidade completa [2,3,4,5,6,7,8,9,10]. Outro dado importante é que a diminuição dos níveis séricos de vitamina B₁₂ e vitamina B₆ estão associados ao aumento de homocisteína no organismo e vice-versa.[11] Assim sendo, é de extrema importância que a deficiência em cobalamina seja detectada o quanto antes, para que se evite danos neurológicos irreversíveis, infarto do miocárdio ou mesmo o aumento do risco de câncer através da hipermetilação das regiões promotoras de genes supressores tumorais, tudo isso em virtude da hipocobalaminemia [10,11,12] no entanto, o maior problema encontrado está em apontar se uma pessoa possui ou não deficiência em cobalamina, pois os exames existentes são, de certa forma, inespecíficos e com baixa acuidade diagnóstica [2,3,13].

Devido a tudo que foi dito, esse problema deve ser tratado com a maior seriedade possível por médicos, nutricionistas, autoridades da saúde e todos os envolvidos na prevenção de doenças relacionadas ao sistema cardíaco e nervoso, visto que a deficiência de vitamina B₁₂ no sangue pode trazer resultados catastróficos.

EVOLUÇÃO HISTÓRICA

A vitamina B₁₂ só veio a ficar conhecida no mundo acadêmico quando três médicos americanos - George Hoyt Whipple, George Richard Minot e William Parry Murphy – *demonstraram que eram capazes de curar a anemia perniciosa, um distúrbio descrito pela primeira vez, em 1834, com uma dieta que incluía o fígado [2]. Eles ganharam o Prêmio Nobel, em 1934, pela descoberta do tratamento da anemia perniciosa com uma dieta a base de fígado, rico em vitamina B₁₂ [6].*

A identidade do fator extrínseco, como era conhecida inicialmente a vitamina B₁₂, permaneceu sem solução, entre os anos de 1945 e 1948, até que três grupos de pesquisadores distintos isolassem um composto cristalino avermelhado: Lester Smith e Folkers, do laboratório Glaxo, nos Estados Unidos; Rickes e associados, do Laboratório Merck, na Grã-Bretanha; e Stokstad e associados, do Laboratório Lederle, também nos Estados Unidos [3,24]. Nos Laboratórios Merck, Folkers e associados utilizaram a cromatografia em coluna com óxido de alumínio para elevar o nível da concentração do princípio da solução antianemia. Mary S. Shorb, na Universidade de Maryland, descobriu, em 1946, que o tal “extrato hepático concentrado com o princípio antianemia” acelerou o crescimento de *Lactobacillus lactis Dornier* (Fator LLD) [3]. Lester Smith e seu grupo, juntamente com Folkers e associados, conseguiram, em 1947, cristalizar um princípio, que se mostrou de cor rosa, e seu resultado foi publicado, simultaneamente, na edição de abril de 1948, das Revistas *Nature*[3] e *Science*[4], respectivamente [2,3,4].

Os dois primeiros grupos encontraram esse novo composto em extratos de fígado e o identificaram como um “fator antianemia perniciosa” responsável pelo controle efetivo dessa doença. Esse composto foi chamado de vitamina B₁₂ e foi verificado que continha cianeto e um átomo de cobalto. Na sua comunicação, Rickes e associados também relataram a presença de uma significativa quantidade de vitamina B₁₂ em meios a uma cepa produtora de griseína de *Streptomyces griseus* bem como de *Mycobacterium smegmatis*, *Lactobacillus arabinosus*, *Bacillus subtilis*, *Streptomyces roseochromogenes* e *Streptomyces antibioticus* [2,29]. Stokstad e associados relataram a produção de um promotor de crescimento em culturas de *Favobacterium solare*, fator ativo encontrado em animais, como galinhas, e totalmente efetivo no tratamento de anemia perniciosa humana [2,29]. Através de experimentos, a vitamina B₁₂ foi encontrada em fezes, esterco e, também, no esgoto, mostrando, assim, a importância dos microrganismos na síntese dessa vitamina [2].

Após os cientistas citados acima terem conseguido isolar esse composto cristalino e avermelhado a partir do fígado, restava a outros pesquisadores descobrirem a sua estrutura química, até então, misterioso composto. Rapidamente, ficou muito claro que a estrutura da vitamina B₁₂ era muito mais complexa do que qualquer elemento, até aquele momento descoberto [2]. Ficou a cargo de uma famosa pesquisadora química egípcia, naturalizada britânica e precursora no estudo da cristalografia, a responsabilidade dessa descoberta. Dorothy Mary Crowfoot Hodgkin isolou, a partir

do extrato de fígado, no ano de 1955, e determinou a estrutura tridimensional da vitamina B₁₂ (cianocobalamina) e, cinco anos depois, da coenzima B₁₂ (adenosilcobalamina), a partir de dados cristalográficos feitos, que a levaram a ganhar o Prêmio Nobel de Química, em 1964. Foi ela quem isolou, além da estrutura da vitamina B₁₂, também a da penicilina e da insulina, todas usando a técnica de difração por raios-X [24,4].

Foi mais ou menos nessa época que foi descoberta uma forma biologicamente ativa da vitamina B₁₂. Usando metilcobalamina enriquecida com ¹⁴C (Metil-B₁₂), que havia sido produzida por Smith e associados, demonstrou-se que ela poderia atuar como um cofator para a síntese da metionina[5]. Desde então, várias enzimas dependentes de adenosilcobalamina e dependentes de Metil-B₁₂ foram isoladas e identificadas; logo, muito progresso foi alcançado na compreensão dos mecanismos e da estereoquímica dos rearranjos dependentes da vitamina B₁₂ [24].

A sua síntese química só foi completada 25 anos após a Cianocobalamina ter sido isolada, em 1948. Esse trabalho envolveu mais de cem pesquisadores ingleses e suíços. Ela requer aproximadamente 70 passos e não tem nenhum valor do ponto de vista industrial devido à sua alta complexidade [32,32,6].

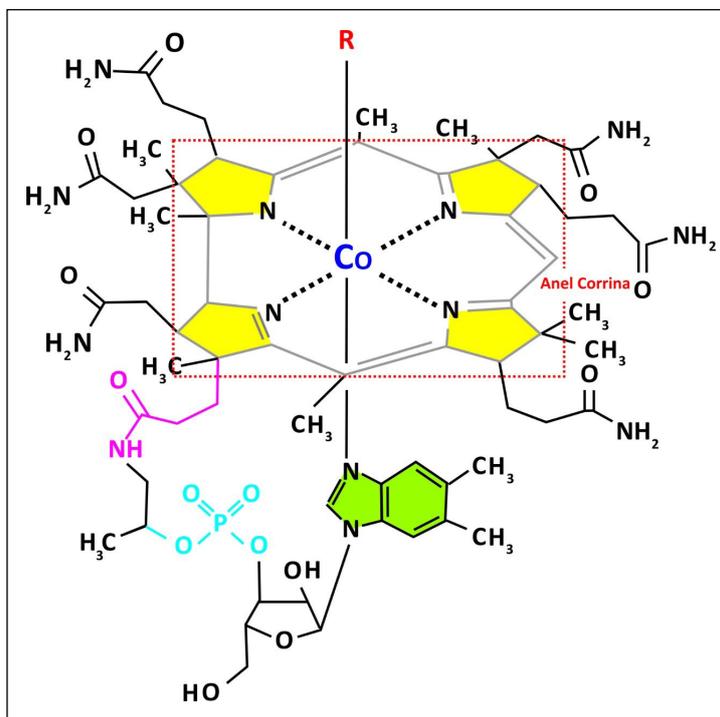
A ESTRUTURA QUÍMICA

A vitamina B₁₂ pertence a um grupo de moléculas orgânicas e complexas. Ela tem fórmula química C₆₃H₈₈CoN₁₄O₁₄P. É única dentre todas as vitaminas, pois, além de ser uma molécula enorme, contém um elemento traço, o cobalto. Atente-se à imagem 1 e siga a descrição a seguir. Note que, no centro da molécula, se encontra um íon de Cobalto III (em roxo) e, em torno dele, aparecem, em posição planar, quatro anéis pirróis (em amarelo) ligados, cada um deles, ao átomo de cobalto por intermédio de um átomo de nitrogênio. Essa região superior, onde podemos ver o átomo de cobalto e os anéis pirróis, recebem o nome de anel corrina (entre os pontilhados vermelhos). O íon de Cobalto é ligado axialmente na parte inferior ao Nucleotídeo Dimetilbenzimidazol Ribonucleotídeo (em verde). Esse, por sua vez, se liga covalentemente à Ribose 3-fosfato (em azul), que está ligada por um radical Propionil a um Aminopropanol do anel pirrol (em rosa). Por último, o átomo cobalto é ligado axialmente na parte superior a um radical R (em vermelho), que pode ser do grupo ciano, e se tornar uma Cianocobalamina; ou um grupo hidroxila e formar uma Hidroxicobalamina ou mesmo um grupo metil e se tornar uma Metilcobalamina [2,4,21,32].

ABSORÇÃO E TRANSPORTE ÀS CÉLULAS

O transporte de vitamina B₁₂, desde sua fonte alimentar até chegar às células do corpo, é mediado por um conjunto sofisticado de proteínas portadoras, receptoras e transportadoras. O caminho que ela percorre é formado por 30 etapas. A via seletiva de transporte de vitamina B₁₂, em todas essas etapas, incluem a liberação de cobalamina dos alimentos ingeridos, transporte gastrointestinal, absorção para alcançar a circulação sanguínea,

Figura 1: Estrutura Geral da Vitamina B₁₂



Fonte: Adaptado pelo autor de González-Montana et al, 2020.

transporte através da circulação e absorção celular [37].

Basicamente, o caminho que a vitamina B₁₂ percorre inicia-se na boca e vai até o íleo distal, onde é absorvida pelos enterócitos. Entretanto, o processo não é tão simples como parece. Tudo começa no estômago quando a acidez estomacal, com a ajuda da atividade proteolítica da pepsina, libera dos alimentos a vitamina B₁₂ que está encapsulada. A vitamina B₁₂, então, é liberada e se liga, subsequentemente, a Haptocorrina (HC, também chamada de proteína R ou Transcobalamina I – TCI), proteína presente na saliva e no suco gástrico. Essa ligação B₁₂-HC é um mecanismo que protege a vitamina da hidrólise no meio ácido do estômago. No duodeno, o complexo B₁₂HC é desmembrado, a HC é degradada por enzimas pancreáticas e a B₁₂ se liga ao fator intrínseco (FI) - uma proteína fortemente glicosilada de 60 kDa, que é secretada pelas células parietais da mucosa da parede gástrica. No íleo terminal, o complexo B₁₂FI é absorvido por endocitose mediada e levada para dentro dos enterócitos por um complexo receptor chamado cubam, que consiste em duas moléculas: a *Cubilina* (que é uma proteína de membrana periférica de 400 kDa que se liga ao complexo B₁₂FI) e a *Amnionless* (AMN, uma proteína endocítica transmembrana de 48 kDa). Após a internalização do complexo B₁₂-FI nos enterócitos, o fator intrínseco é degradado no lisossomo pelas ações da proteólise lisossomal muito provavelmente por catepsina L - e a vitamina B₁₂ é liberada para o plasma através da membrana basolateral da célula por um transportador ATP *Binding Cassette* C1 (ABCC1) de 190 kDa, também denominado MRP1 [3,4,21].

Após a vitamina B₁₂ sair do enterócito, e já no plasma, ela

se liga a três transcobalaminas. A maior parte dela se liga à Transcobalamina I (TCN1) ou Haptocorrina. Uma outra porção é transportada pela Transcobalamina II (TCN2), que representa aproximadamente 10% a 30% da fração circulante de vitamina B₁₂, e uma pequena fração de vitamina B₁₂ circula ligada à Transcobalamina III (TCN3). Vale ressaltar que a TCN2 é a única que contém a fração biologicamente ativa da Cobalamina; sendo assim, a única responsável em promover a entrada da Cobalamina nas células [3]. No fígado e em outros tecidos, a absorção da B₁₂TCN2dependente é mediada pelo receptor CD320, enquanto o receptor megalina é responsável pela reabsorção do complexo nos rins.[21,37].

A ATUAÇÃO DA VITAMINA B₁₂ NO ORGANISMO HUMANO E A HOMOCISTEÍNA

Após a Vitamina B₁₂ ter percorrido todo o trajeto listado acima e ter sido levada as células pela TCN2, ela começa a cumprir importantes papéis. Ela atua no organismo humano como um cofator essencial para três enzimas: a *Metionina Sintase* (MTR), a *Betaina Homocisteína Metiltransferase* (BHMT) e a *L-metilmalonil-CoA Mutase*. Duas formas da vitamina B₁₂ distintas atuam como coenzimas em duas reações metabólicas. A AdenosilB₁₂ participa da conversão intramitocondrial de Metilmalonil Coenzima A (CoA) para SuccinilCoA em presença da enzima L-metilmalonilCoA Mutase e está relacionada ao ciclo do ácido cítrico [2,15], enquanto a MetilB₁₂ participa da conversão citosólica da homocisteína para metionina por intermédio da enzima *Metionina Sintase* (MTR),

fazendo, assim, parte do *ciclo da metionina* e do *ciclo do folato*, os quais serão abordados mais à frente [21].

O ciclo da metionina, um aminoácido essencial, e do folato estão relacionados à conversão de um importante aminoácido sulfurado chamado homocisteína em metionina. A homocisteína foi descoberta, no ano de 1932, por Vincent Du Vigneaud (um químico norte-americano que foi agraciado com o Prêmio Nobel, em 1955) [4], e, posteriormente, foi constatado que o excesso desse aminoácido no organismo é extremamente prejudicial à saúde e doenças, como a doença primária da artéria coronária, cerebrovascular ou vascular, são advindas da hiperhomocisteinemia ou excesso de homocisteína no organismo [3,5].

O METABOLISMO DA HOMOCISTEÍNA

A homocisteína é um aminoácido sulfurado que apresenta um grupo sulfidríla (SH) em sua estrutura. [40]. Esse aminoácido não é encontrado em nenhum alimento que conhecemos, mas é um produto intermediário do metabolismo proveniente da desmetilação da metionina advinda da dieta ou do seu catabolismo [3,4,40].

O metabolismo da homocisteína ocorre entre duas vias metabólicas: a da remetilação e a da transulfuração da metionina [40]. A remetilação da metionina acontece através de outras duas vias: a primeira, chamada de “remetilação dependente do folato” neste caso, o ciclo da metionina depende do ciclo do folato para acontecer, e a segunda, a “remetilação independente de folato”, que depende da betaina e não mais do ciclo do folato [6].

É a partir da alimentação que as proteínas adentram o organismo e, com elas, os aminoácidos. Após serem absorvidas pelas células epiteliais do intestino delgado, elas são transportadas para a corrente sanguínea e levadas aos diversos tecidos do corpo. Em meio a esses aminoácidos está a metionina. Após ela estar disponível, dá-se início ao “ciclo da metionina”. Ela é catabolizada por remoção do grupo metil através de ATP (adenosina trifosfato), na qual é ativada pela enzima Metionina Adenosiltransferase (MAT), formando, assim, a S-adenosilmetionina (SAM), a maior doadora de grupos metila (CH₃) para a maioria das reações de metiltransferase [4]. Após a SAM ser formada, esta passa por uma desmetilação por meio de uma reação irreversível catalisada pela enzima SAH hidrolase, na qual resulta a S-Adenosilhomocisteína (SAH), único precursor da homocisteína [5,6]. Na sequência desse ciclo, a SAH é hidrolisada, gerando, assim, a adenosina e a homocisteína [7,8]. É nessa etapa do processo que a homocisteína vai remetilar e transulfurar.

O processo de remetilação pode acontecer de duas maneiras distintas: através da “remetilação dependente do folato” ou da “remetilação independente do folato”. Na “remetilação dependente do folato”, na parte final do “ciclo do folato”, a vitamina B₁₂ age como cofato [13,14]. na conversão da homocisteína em metionina e Tetrahydrofolato (THF) [44]. O 5-Metiltetrahydrofolato (5-MTHF) - a forma mais biologicamente ativa do folato - doa um grupo metil (CH₃) para a homocisteína, mediante a Metionina Sintetase (MTR) como enzima catalizadora. Na sequência do ciclo, a Serina Hidroximetiltransferase (SHMT) - uma enzima que pode

ser citosólica ou mitocondrial e dependente de Piridoxal 5'-fosfato (PLP), a forma ativa da vitamina B₆ - catalisa a conversão reversível de serina e Tetrahydrofolato (THF) em 5,10-Metilenotetrahydrofolato (MTHF) [4,5]. Essa é reduzida a 5-Metiltetrahydrofolato (5-MTHF) e necessita da forma enzimática da riboflavina, a Dinucleótido de Flavina e Adenina (FAD), como cofator [2]. Em seguida, a 5-Metiltetrahydrofolato (5-MTHF) é catalisada pela enzima 5,10-Metilenotetrahydrofolato reductase (MTHFR) e doa um grupo metil a homocisteína, transformando-a em metionina para que o ciclo recomece [40,14].

Na “remetilação independente do folato”, tem-se a colina como a precursora da betaina e é a partir desta que a metionina é produzida. As vias do metabolismo da colina e do carbono se interceptam para formarem juntas a metionina a partir da homocisteína [3]. Destaca-se, na estrutura química da colina, os seus três grupos metila, cuja função final é atuar como fonte de grupos metil para reações de metilação [15,16]. A metabolização da colina, até que ela se interseccione com o ciclo da metionina e, subsequentemente, ao ciclo do folato, segue o seguinte caminho: primeiramente, a colina é oxidada em Betaína Aldeído pela enzima mitocondrial Colina Desidrogenase e, posteriormente, a enzima Betaína Aldeído é oxidada na mitocôndria ou no citoplasma pela enzima citosólica Betaína Aldeído Desidrogenase, formando, dessa forma, a betaína, que é transformada em metionina através da doação de um grupo metil pela enzima Betaína Homocisteína Metiltransferase (BHMT), uma outra enzima também dependente da vitamina B₁₂. [6,7,8,9,10]. Vale frisar que a remetilação, tendo o 5-MTHF como doador de metil, ocorre em todos os tecidos, enquanto a reação da betaína ocorre exclusivamente nos rins e no fígado [61].

A outra via metabólica responsável pela metabolização da homocisteína é a via de transulfuração, que ocorre, principalmente, no fígado e nos rins. Nela, a enzima cistationina β-sintase condensa a homocisteína com serina para formar a cistationina por meio de uma reação irreversível catalisada pelo Piridoxal 5'-fosfato (PLP), a forma ativa da vitamina B₁₂ [40,41,48,6,7]. Na sequência, a cistationina é hidrolisada pela enzima γ-cistationase, usando Piridoxal 5'-fosfato como cofator, para criar duas rotas de metabolização. Na primeira rota, a cisteína é transformada em glutationa, taurina e sulfato inorgânico, que, posteriormente, é excretado na urina [41,62,6]. Na segunda rota, a cisteína é convertida em α-cetobutirato, que, por sua vez, é convertido em Propionil-CoA. Em seguida, o Propionil-CoA é convertido em Succinil Coenzima A, e, após isso, é convertido em Succinil Coenzima A, tendo a enzima L-metilmalonil-coA Mutase como responsável dessa conversão e a Adenosilcobalamina (vitamina B₁₂) como cofator [3]. Faz-se necessário citar que a via de transulfuração não requer a transferência de um grupo metil para que as reações aconteçam [62].

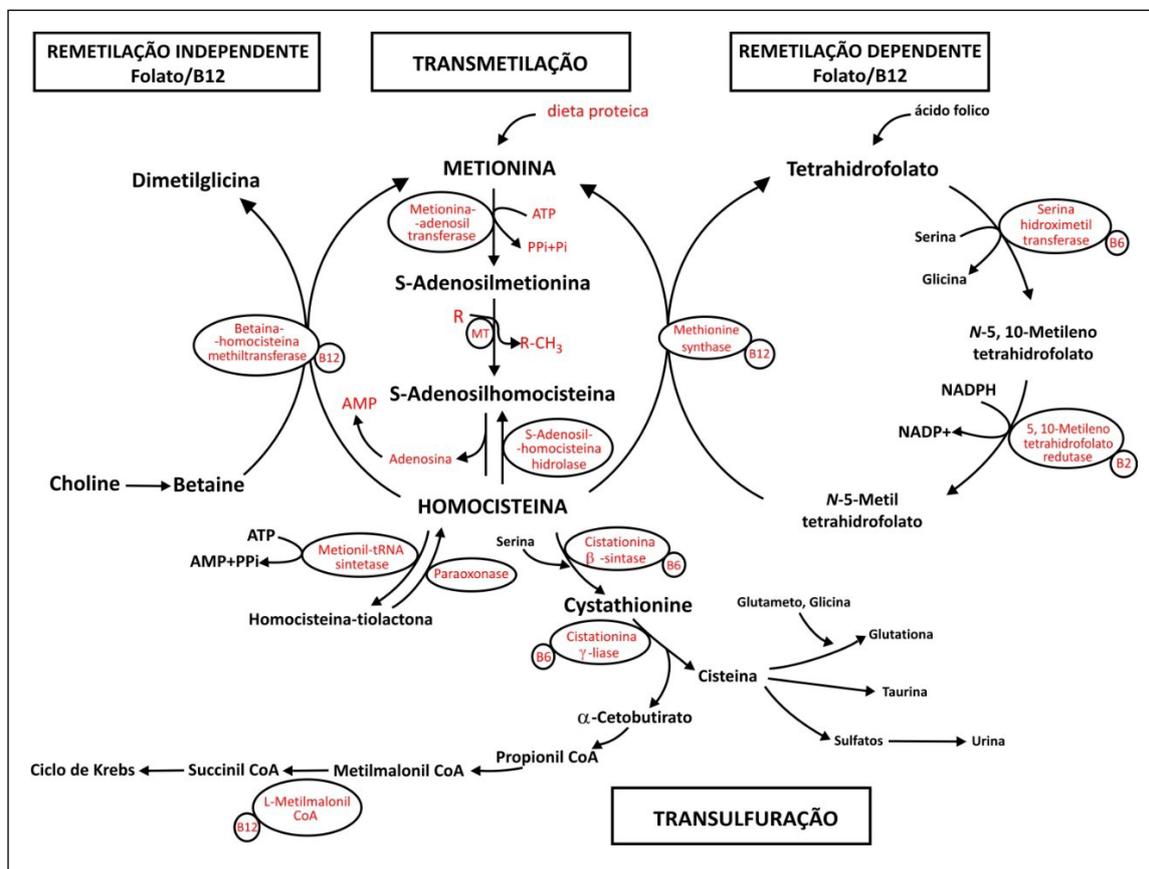
METABOLIZAÇÃO DA HOMOCISTEÍNA E A VITAMINA B₁₂

Como se sabe, o excesso de homocisteína no organismo é extremamente prejudicial à saúde das pessoas, em especial

ao sistema nervoso e cardiovascular. Como já explicado, a transformação da homocisteína em metionina se dá através de três vias: a primeira, através da remetilação da homocisteína, tendo o Metiltetrahydrofolato como doador de metil; a segunda, a metionina é produzida a partir da colina que se transforma

em betaína, que, por sua vez, é a responsável em fornecer o grupo metil para converter a homocisteína em metionina; e, por fim, a terceira via, que é a da transulfuração, independe de metilação e acontece quando a remetilação da metionina está falhando.

Figura 2: O metabolismo da homocisteína.



Fonte: Adaptado pelo autor de Škovierová, 2016.

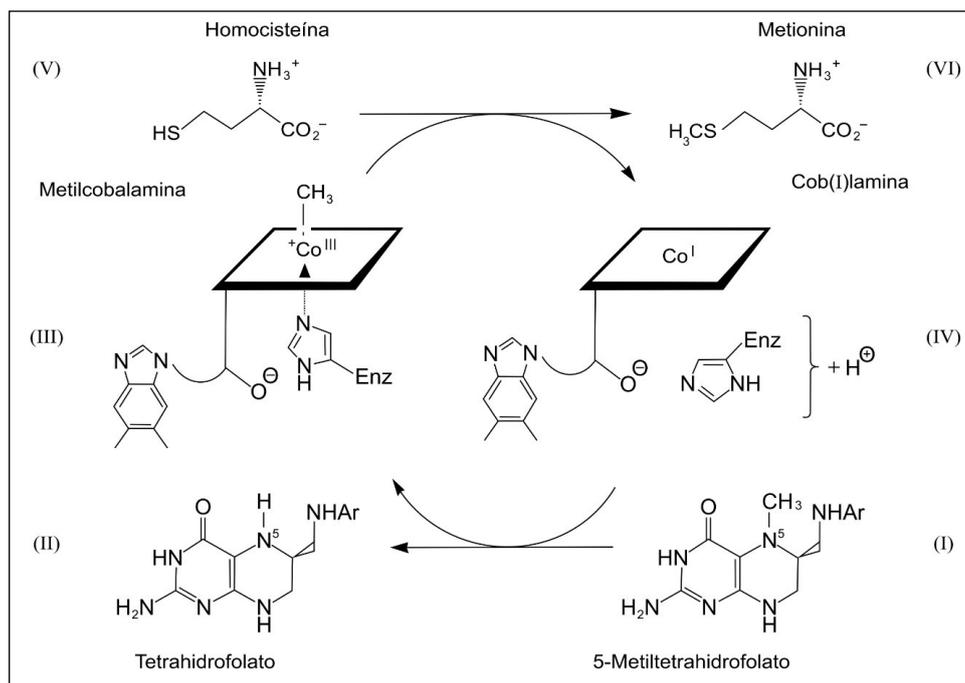
A vitamina B₁₂ age nas três vias como cofator; ou seja, para que as reações em questão aconteçam, necessita-se da cobalamina. Por mais que a ingestão de folato esteja adequada e suas taxas se encontrem em níveis satisfatórios, sem a cobalamina, como cofator o 5-MTHF, não conseguirá remetilar a metionina e teremos duas consequências: 1) o folato ingerido ou suplementado ficará aprisionado no organismo, trazendo consequências negativas; 2) a metionina não irá remetilar e os níveis da homocisteína aumentará, trazendo problemas já mencionados neste artigo.

Agora, será mostrado o motivo do 5-MTHF necessitar da vitamina B₁₂ como cofator e quais são as reações químicas que acontecem para que haja essa remetilação.

No ciclo do folato, na parte final das reações, acontece um ciclo catalítico, na qual a cobalamina, cofator dependente da metionina sintetase, é alternadamente metilada para Metilcobalamina através do 5-MTHF e desmetilada pela homocisteína na forma Cob(I)alamina. Inicialmente, a 5-MTHF doa o seu grupo metil

para a cobalamina, metilando-a e tornando-a Metilcobalamina - Passo (I) para (III). Em seguida, a Metilcobalamina se desmetila e se transforma em Cob(I)alamina - Passo (III) para (IV) - e doa o seu grupo metil a homocisteína – Passo (III) para (V), tornando-a metionina – Passo (V) para (VI). O átomo de hidrogênio (H), que sobrou na transformação da homocisteína em metionina, é doado ao composto que ficou sem o grupo metil (item I), formando, dessa forma, o tetrahydrofolato (THF) – passo (VI) para (II). A Cob(I)alamina, posteriormente, produz a Cob(II)alamina, uma enzima inativa, na qual é reativada por metilação redutiva que usa a SAM como doadora de metil [48,7]. A SAM, por sua vez, é usada como um substrato doador de metila por mais de duzentas diferentes enzimas metiltransferases, catalisando a metilação do DNA, RNA, proteínas, lipídios e numerosas moléculas pequenas [8]. É ela a maior responsável no organismo em doar grupos metila para a manutenção da mielina, que é rica em lipídeos e proteínas. Ou seja, a SAM por ser uma excelente doadora de grupos metila, já que acaba sendo portadora da saúde e protetora contra doenças.

Figura 3: Dependência da vitamina B₁₂ como cofator no ciclo do folato.



Fonte: Adaptado pelo autor de Abujamra, 2015

Ao contrário, baixas taxas de SAM faz com que haja menos remetilação e a doença é eminente.

Dessa forma, se as taxas de vitamina B₁₂ (cobalamina) estiverem baixas, esse ciclo será quebrado, já que o 5-MTFH não terá para quem entregar esse grupo metil; o metilfolato será aprisionado e a homocisteína se elevará a níveis perigosos, impactando, sobretudo, o sistema nervoso e cardíaco. É sabido a importância da SAM na remetilação da metionina e os problemas de altas taxas de homocisteína e baixas taxas de vitamina B₁₂. Sobre isso, Paniz e associados (2005) [3] falam que, além do aumento de Hcy [homocisteína], a deficiência de vitamina B12 causará diminuição da SAM e, conseqüentemente, redução de importantes reações de transmetilação do organismo, provocando defeitos desmielinizantes no sistema nervoso [3].

Portanto, a vitamina B₁₂ é um elemento chave, tanto para a metabolização do folato quanto para a remetilação da homocisteína, e imprescindível para a proteção do ser humano como um todo.

ALGUNS MALES CAUSADOS PELO ACÚMULO DA HOMOCISTEÍNA

Há anos é debatido até que ponto a concentração baixa de vitamina B₁₂ influencia no aparecimento de doenças neurológicas e mentais [9]. São muitos artigos científicos que correlacionam variadas doenças a altas taxas de homocisteína e baixas taxas de cobalamina no organismo. Por exemplo, Zoccolella (2012)[10], fala que os estudos in vitro observaram que a Hcy [homocisteína]

pode exercer, mesmo em concentrações fisiológicas (10 µmol/l), múltiplas ações tóxicas em neurônios, incluindo estresse oxidativo, disfunção mitocondrial, acúmulo de cálcio citosólico, ativação de vias apoptóticas e excitotóxicas e indução de neuroinflamação. Todos esses mecanismos têm se mostrados relevantes na patogênese ou progressão de várias doenças neurodegenerativas, incluindo a EM [Esclerose Múltipla] [69].

Além da toxicidade imposta pelo acúmulo de homocisteína aos neurônios das pessoas, inúmeras doenças neurológicas, como a depressão [69], déficit de memória, disfunções cognitivas e demência [9] e doenças desmielinizantes [71], muitas das vezes, são apenas o resultado de anos de acúmulo de homocisteína no organismo dessas pessoas.

Segundo Vilaça et al (2015) [9], a SAM é o principal doador de radical metil para várias reações no sistema nervoso central (SNC), como a síntese de ácidos nucleicos, neurotransmissores e lipídios, entre esses os componentes da mielina. A hipometilação da proteína básica da mielina torna a mielina menos hidrofóbica, mais instável e suscetível a dano oxidativo e inflamatório. Estudos de metanálise mostram aumento dos níveis de HCT [homocisteína] em pacientes com esclerose múltipla (EM), podendo ser esse mais um evento na fisiopatologia da EM [71]. Elevados níveis de homocisteína também foram encontrados em pessoas com Alzheimer, Parkinson, Esclerose Múltipla e Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA).

Segundo Moraes e associados (2017) [71] na iperhomocisteinemia, parte da homocisteína é convertida em homocisteína tiolactona, que pode danificar ou até mesmo causar a perda da função de

proteínas do endotélio vascular, além de induzir a resposta imune. A ligação da homocisteína com albumina, hemoglobina, fibrinogênio, lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de alta densidade (HDL) e outras proteínas circulantes promove a modificação conformacional dessas proteínas. O fibrinogênio torna-se mais permeável e resistente à fibrinólise, e as partículas de LDL, mais suscetíveis à oxidação, favorecendo a formação de trombose [72].

Outras doenças como as vaso-oclusivas também são atribuídas a altas taxas de homocisteína, e, conseqüentemente, baixas taxas de folato e/ou cobalamina [30,20].

Outro problema causado pela hiperhomocisteinemia está relacionado aos problemas cardíacos. Muitos estudos recentes apontam que a alta de homocisteína no organismo está relacionada à doença vascular aterosclerótica coronarian [14,40,46]. Embora os mecanismos do desenvolvimento das doenças cardiovasculares não estejam bem definidos, Vannucchi e Melo (2009) [9], dizem que a patogenia da lesão vascular determinada pela hiperhomocisteinemia inclui lesão da célula endotelial, crescimento da musculatura lisa vascular, maior adesividade plaquetária, aumento da oxidação do LDL-colesterol com deposição na parede vascular e ativação direta da cascata da coagulação. A hiperhomocisteinemia parece causar, principalmente, alterações do endotélio vascular, mediadas pelo efeito tóxico-oxidativo da homocisteína. No plasma, parte da homocisteína é auto-oxidada, formando superóxidos e peróxido de hidrogênio, o que poderia causar lesão da célula endotelial, ativação plaquetária e trombose. Dessa forma, foi proposto que a homocisteína causa danos endotelial grave e que essa injúria conduz à ativação plaquetária, à proliferação de células musculares lisas e à trombose. Além disso, a homocisteína pode induzir a atenuação da biodisponibilidade do óxido nítrico, causando a diminuição das propriedades antitrombóticas do endotélio e ocasionando a ativação plaquetária e a geração de trombina [73].

Outro mal causado pelo acúmulo da homocisteína e suas altas taxas é o câncer. A S-adenosilmetionina ou, simplesmente, SAM faz parte do ciclo da remetilação da metionina. Ela é um importante cofator enzimático e um doador universal de grupos metil que são responsáveis por importantes funções essenciais [3,71]. Sem uma quantidade adequada de vitamina B₁₂ no organismo, o ciclo da metionina não funcionará adequadamente, acarretando produção baixa de metionina com uma produção reduzida de SAM e a elevação da SAH, sua sucessora, que é um inibidor da atividade das metiltransferases, podendo levar a atividades aberrantes destas. Assim, a elevação da taxa de SAH no organismo tem sido associada a hipometilação global do DNA, um importante fator oncogênico [21,9]. Ainda segundo Škovierová e associados (2016) [73], os níveis de SAM podem alterar a metilação da citosina em ilhas CpG de DNA, resultando na repressão de genes supressores de tumor, ativação de proto-oncogenes e, também, na indução de transformações malignas [21,10].

Portanto, é muito importante que se mantenha não somente as taxas de folato em níveis satisfatórios, como a grande maioria da comunidade médica recomenda, mas todos devemos nos

atentar para que as taxas da vitamina B₁₂ fiquem sempre dentro de um patamar adequado em virtude da importância que tem para a proteção da saúde do ser humano, uma vez que atua, sobretudo, como cofator na remetilação da metionina e na produção da SAM, o maior doador de metil dos mamíferos.

DIAGNÓSTICO DA DEFICIÊNCIA, METODOLOGIAS DISPONÍVEIS E QUANTIDADE DIÁRIAS NECESSÁRIAS

Antes de dar início a análise sobre o diagnóstico e metodologias disponíveis para mensurar as taxas de vitamina B₁₂ no organismo humano vale recapitular como esta vitamina é levada e absorvida pelas células. Devemos lembrar que a vitamina B₁₂, ao sair do enterócito, lá no íleo distal, e já no plasma, se liga a três transcobalaminas. A maior parte dela se liga 1) à transcobalamina I (TCN1) ou haptocorrina ou mesmo holo-haptocorrina (holo-HC); 2) uma outra porção é transportada pela Transcobalamina II (TCN2) ou holo-TC ou mesmo holo-transcobalamina, que representa aproximadamente 10% a 30% da fração circulante de vitamina B₁₂; e 3) uma pequena fração de vitamina B₁₂ circula ligada à Transcobalamina III (TCN3), sendo que a TCN2, ou holo-transcobalamina, é a única que contém a fração biologicamente ativa da Cobalamina; sendo assim, a única responsável em promover a entrada da cobalamina nas células. Dito isso, vamos às análises.

Infelizmente, não existe um exame ouro para diagnosticar e mensurar se uma pessoa tem ou não deficiência de vitamina B₁₂. Os exames existentes ainda não têm uma boa precisão que contribua mais efetivamente ao combate às baixas taxas de cobalamina no organismo do ser humano. Na verdade, são vários exames, em conjunto, que tornam a conclusão do profissional da saúde mais precisa e diz se uma pessoa precisa ou não de suplementação dessa vitamina.

O exame mais simples, comum e conhecido é o da vitamina B₁₂ sérica. Este exame, denota essencialmente a vitamina B₁₂, que está ligada à formação de suas duas proteínas transportadoras, a holohaptocorrina (holo-HC) e holotranscobalamina (holo-TC). Embora o holo-HC represente 70 a 80 % da vitamina B₁₂ no soro, apenas o holo-TC (vitamina B12 ativa) pode ser utilizado pelas células humanas. Dessa forma, o uso único e exclusivo do exame da vitamina B₁₂ sérica pode mostrar resultados errôneos porque mede a vitamina B₁₂ que está em circulação e não indica a porção ativa que está disponível para as células do corpo. Assim, embora seja um exame barato e com acuracidade razoável não denota com precisão se aquela pessoa está ou não com reais deficiências de cobalamina. Relacionado a esse exame, os níveis considerados insuficientes pela maioria dos pesquisadores é quando esses estão inferiores a 200 pg/ml ou 148pmol/l, embora muitos profissionais da saúde acreditem que se uma pessoa chegar nesses níveis seu organismo já estará deficiente [3].

Um segundo exame que é usado para mensurar os níveis de vitamina B₁₂ é a homocisteína sérica. Como já explanado nesse artigo, níveis elevados de homocisteína denota inadequação de algumas vitaminas como a B₂, B₆, ácido fólico e, sobretudo, a

vitamina B₁₂. Assim, embora não seja uma medição direta, níveis de homocisteína acima de 8 a 9 micromol/L pode denotar índices baixos de vitamina B₁₂ no organismos visto que essa vitamina é cofator na metabolização, tanto na via da remetilização quanto na via da transulfuração da metionina [3,12,13].

Outro exame utilizado para diagnosticar níveis de vitamina B₁₂ no organismo humano é o ácido metilmalônico ou MMA. A produção desse ácido faz parte da via da transulfuração e está diretamente relacionado aos níveis da cobalamina. Embora o aumento na produção desse ácido possa acontecer mediante a insuficiência renal, na gravidez, nas doenças da tireoide, em condições de hemoconcentração e no aumento intestinal de bactérias produtoras de ácido propiônico, precursor do MMA, mesmo assim, ele é um importante ferramenta no diagnóstico da deficiência da vitamina B₁₂ visto que ela age como cofator conversão de metilmalonil coenzima A para succinil coenzima A. Assim, a deficiência da vitamina B₁₂, o cofator dessa reação, faz com que essa metabolização seja prejudicada e, assim, há a formação excessiva de ácido metilmalônico no organismo, e um aumento dos seus níveis séricos. Segundo Paniz e associados (2005) a deficiência de vitamina B₁₂ ocorre quando níveis de MMA estão superiores a 0,4µmol/l no soro, ou maiores que 3,2mmol/mol de creatinina na urina para adultos e superiores a 20- 23mmol/mol creatinina em criança [9].

O último exame a ser considerado é o holo-transcobalamina ou holo-TC. Ele é capaz de mensurar os níveis de vitamina B₁₂ ativa no organismo, ou seja, aquela que definitivamente será levada para dentro das células. Esse exame, embora seja muito mais preciso do que o vitamina B₁₂ sérica é muito mais dispendioso. Nexo e Hoffmann-Lücke (2011), já diziam nessa época que um dos fatores para inibir a disseminação do uso desse exame era seu alto custo [9]. As taxas de vitamina B₁₂ para esse tipo de exame se assemelha aos da vitamina B₁₂ sérica, ou seja, devem ficar, segundo alguns pesquisadores, acima de 200 pg/ml ou 148 pmol/l para que não haja deficiência de vitamina B₁₂.

Mas, que valor de corte a comunidade médica e os pesquisadores recomendam para que os níveis de vitamina B₁₂ estejam dentro de um patamar adequado? Quanto a um valor de corte específico não há um consenso bem definido. Paniz e associados (2005) dizem que, para que haja uma normalidade, as taxas de cobalamina devem ficar acima de 200 pg/m. Já Brownstein (2012) [75] é defensor de que valores abaixo de 600 pg/ml caracterizem deficiência de vitamina B₁₂. Por fim, Franco, Florentino e Silva (2020) dizem que níveis de vitamina B₁₂ devam ficar acima de 400ng/ml para ser considerado como normal [9].

Não há uma única maneira de repor a deficiência de vitamina B₁₂ em seres humanos, entretanto algumas metodologias se mostraram eficazes. As mais comuns são as suplementações via injetável e via oral. Pode-se suplementar metilcobalamina, cianocobalamina e hidroxicobalamina. Todas elas são eficazes no tratamento, entretanto a metilcobalamina, que é a forma ativa da vitamina B₁₂, parece obter melhores resultados [24].

A posologia adequada da suplementação da vitamina B₁₂ é explorada por vários autores e parece que todos eles têm uma

certa unanimidade na maneira em como ela deve ser feita. O objetivo dessa suplementação é tratar e frear os mais variados danos causados pela deficiência da vitamina B₁₂ causados pela doença celíaca, cirurgia bariátrica, anemia perniciosa, doença de Crohn, etc.

Kuzminski e associados (apud WANG et al, 1998, p.9) chegaram à conclusão de que 2000 mcg tomadas diárias e oralmente têm o mesmo efeito de 1000 mcg injetadas intramuscularmente uma vez ao mês. Bolaman e associados (apud WANG et al, 1998, p. 9) concluíram que 1000 mcg de vitamina B₁₂ oral ou intramuscular diariamente durante 10 dias, na sequência, uma dose por semana durante quatro semanas e, por fim, uma vez por mês para toda a vida foi igualmente eficaz para tratar pacientes com anemia megaloblástica. Fairfield (2019) também defende a dosagem posta pelos autores anteriores. Scharnweber e associados (2017) diz que, tradicionalmente, o tratamento feito para deficiência de vitamina B₁₂ é uma dose de 1 mg semanalmente durante 8 semanas seguidas e 1 mg todo mês pelo resto da vida [9,10,11,12,13,14].

CONCLUSÃO

Como foi notado durante todo este artigo, a cobalamina é uma vitamina ímpar. Tão diferenciada que é a única vitamina solúvel que se acumula no organismo. A sua estrutura química é enorme e bela, mas não é somente as suas características que impressionam. Ela como um todo é diferenciada. A sua atuação no organismo dos mamíferos se assemelha a um coringa. Ao atentar sua estrutura com mais atenção na figura 1, percebe-se sua versatilidade, pois se apresenta de três formas: a Cianocobalamina, a Hidroxicobalamina e a Metilcobalamina. A figura 2 chama a atenção pela sua presença tanto na via de remetilização quanto na da transulfuração. Se ela não atuasse como cofator, os grupos de metil não seriam doados e a reações não aconteceriam. A figura 3 só confirma o que foi dito: essa imagem mostra claramente a cobalamina doando seus grupos metil, atuando efetivamente no ciclo da remetilização e confirmando que não basta a pessoa ter folato suficiente no organismo se não tiver a cobalamina. Definitivamente, tanto o folato quanto a homocisteína poderiam se acumular, se ela não atuasse.

Assim sendo, é muito importante ter os níveis adequados das vitaminas B₂, B₆, folato e colina; mas, se a vitamina B₁₂ estiver em déficit, certamente teremos problemas.

REFERÊNCIAS

- MORAES, M. J. C; MURUSSI, S. S.; REZENDE, P. A. F. Vitamina B12: análise da relação entre sinais e sintomas de vegetarianos e não vegetarianos. Disponível em: < <https://repositorio.uniceub.br/jspui/handle/prefix/15342> >. Acesso em: 14 out. 2021.
- SPALLA, C.; et al. Vitamin B12. In: VANDAMME, E. J. **Biotechnology of vitamins, pigments and growth factors**. London ; New York: Elsevier Applied Science, Cop, p. 257-284, 1989.

3. PANIZ, C. et al. Fisiopatologia da deficiência de vitamina B12 e seu diagnóstico laboratorial. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 41, n. 5, p. 323-334, out. 2005.
4. NIELSEN, M. J. et al. Vitamin B 12 transport from food to the body's cells—a sophisticated, multistep pathway. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 9, n. 6, p. 345–354, 1 jun. 2012.
5. COZZOLINO, Sílvia M. Franciscato. Biodisponibilidade de nutrientes. 5. ed. Barueri, SP: Manole, 2016.
6. PEREDA, A. R. et al. Vitamina B₁₂ y folato en adultos mayores urbanos no institucionalizado. **ALAN**, v. 56, n. 2, jun. 2006. Disponível em: http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0004-06222006000200004&script=sci_arttext&lng=en. Acesso em 16 out. 2021.
7. MARÍN, C. et al. Niveles de micronutrientes en niños escolares colombianos e inseguridad alimentaria. **Biomédica**, v. 41, n. 3, p. 458–471
8. CASSIMIRO, J. M. M. et al. Deficiência de vitamina B12 em pacientes de uma enfermagem de clínica médica em Fortaleza/CE doi: 10.20513/2447-6595.2016v56n1p18-23. **Revista de Medicina da UFC**, v. 56, n. 1, p. 18, 30 jun. 2016.
9. COUSSIRAT, Caroline. **Prevalência de deficiência de vitamina B12 e ácido fólico e sua associação com anemia em idosos atendidos em um hospital universitário**. Porto Alegre, 2010 Dissertação (Medicina) - PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL, Porto Alegre, 2011.
10. RAMSARANSING, G. S. M et al. Plasma homocysteine levels in multiple sclerosis. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 77, n. 2, p. 189–192, 1 fev. 2006.
11. MEERTENS-R, Lesbia; SOLANO-R, Liseti. Vitamina B12, Ácido Fólico y Función Mental en Adultos Mayores. **Invest. clín**, Maracaibo, v. 46, n. 1, p. 53-63, março 2005. Disponível em: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0535-51332005000100007&lng=es&nrm=iso. Acesso em 16 out. 2021.
12. PUPPIN, Sérgio. Doenças cardiovasculares – verdades e mitos. Rio de Janeiro, RJ: Editora Rio, 2002.
13. BOWDEN, Jonny; SINATRA, Stephen. O mito do colesterol – porque a diminuição do seu colesterol não reduzirá o risco de doenças cardíacas. São Paulo, SP: WMF Martins Fontes, 2016.
14. NEVES, L. B.; MACEDO, D. M.; LOPES, A. C. Homocisteína. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 40, n. 5, out. 2004.
15. THAME, G. et al. Folato, vitamina B12 e ferritina sérica e defeitos do tubo neural. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetria**, v. 20, n. 8, p. 449–453, set. 1998.
16. FÁBREGAS, B. C.; VITORINO, F. D.; TEIXEIRA, A. L. Deficiência de vitamina B12 e transtorno depressivo refratário. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria**, v. 60, n. 2, p. 141–143, 2011.
17. ARMITAGE, Jane M. Effects of Homocysteine-Lowering With Folic Acid Plus Vitamin B12vs Placebo on Mortality and Major Morbidity in Myocardial Infarction Survivors. **JAMA**, v. 303, n. 24, p. 2486-2494, 23 jun. 2010.
18. GARCIA, G. et al. Homocisteína, folato e vitamina B12 em pacientes colombianos portadores de coronariopatia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 89, n. 2, p. 79–85, ago. 2007.
19. UED, Fábio da Veiga. **Homocisteína, vitaminas do complexo B e perfil de ácidos graxos em crianças e adolescentes**. Ribeirão Preto, 2019. 162 p Tese (Medicina) - UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, Ribeirão Preto, 2019. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17144/tde-26072019-170058/publico/FABIODAVEIGAUEDco.pdf>. Acesso em: 16 out. 2021.
20. STRECK, E. L.; MARTINS, J. T.; CARVALHO-SILVA, M. Efeitos da deficiência de vitamina B12 no cérebro. **Inova Saúde**, v. 6, n. 1, p. 192-207, 27 jul. 2017.
21. GUERRA-SHINOHARA, E. M.; PANIZ, C.; GOMES, G. W. Vitaminas do complexo B e o metabolismo de um carbono. In COMINETTI, Cristiane ; ROGERO, Marcelo Macedo; HORST, Maria Aderuza. **Genômica nutricional: dos fundamentos à nutrição molecular**. 1 ed. Barueri: Manole, 2017
22. SVARDAL, A. M.; et al. Disposition of Homocysteine in Rat Hepatocytes and in Nontransformed and Malignant Mouse Embryo Fibroblasts following Exposure to Inhibitors of S-Adenosylhomocysteine Catabolism. **Cancer Research**, v. 46, n. 10, p. 5095-5100, jun. 1986.
23. KLEE, G. G. Cobalamin and Folate Evaluation: Measurement of Methylmalonic Acid and Homocysteine vs Vitamin B12 and Folate. **Clinical Chemistry**, v. 46, n. 8, p. 1277–1283, 1 ago. 2000.
24. POCHOLOK, Sally. E se for a B12? Belo Horizonte, MG: Editora Laszlo, 2017.
25. MARTENS, J. H. et al. Microbial production of vitamin B 12. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 58, n. 3, p. 275–285, 1 mar. 2002.
26. Nobel Prize for Medicine and Physiology for 1934. **Nature**, v. 134, n. 3392, p. 691–692, nov. 1934.
27. OKUDA, K. Discovery of vitamin B12 in the liver and its absorption factor in the stomach: A historical review. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 14, n. 4, p. 301–308, 28 fev. 2002.
28. SHORB, M. S. Unidentified growth factors for Lactobacillus lactis in refined liver extracts. **Journal of Biological Chemistry**, v. 169, n. 2, p. 455–456, jul. 1947.
29. SMITH, E. L. Purification of Anti-pernicious Anaemia Factors from Liver. **Nature**, v. 161, n. 4095, p. 638–639, abr. 1948.
30. RICKES, E. L. et al. Crystalline Vitamin B12. **Science**, v. 107, n. 2781, p. 396–397, 16 abr. 1948.
31. PAPPWORTH, M. H. Vitamin B12 (from Streptomyces griseus) in Pernicious Anaemia. **BMJ**, v. 1, n. 4665, p. 1302–1303, 3 jun. 1950.
32. SAMPAIO, Romildo Martins. **Estudo da produção da vitamina B12 por bactérias dos gêneros Propionibacterium e Pseudomonas**. Campinas, 1999 Tese (Faculdade de Engenharia de Alimentos) - UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, Campinas, 1999.
33. MAUGH, T. H. Vitamin B12: After 25 Years, the First

- Synthesis. **Science**, v. 179, n. 4070, p. 266–267, 19 jan. 1973.
34. MELO, L. M. DE A.; SILVA, O. C. DA. Biografia profissional de Dorothy Hodgkin - Contribuições para Química, Biologia e Bioquímica/ Professional biography of Dorothy Hodgkin - Contributions to Chemistry, Biology and Biochemistry. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 4, p. 41976–41982, 26 abr. 2021.
35. GUEST, J. R. et al. A Methyl Analogue of Cobamide Coenzyme in Relation to Methionine Synthesis by Bacteria. **Nature**, v. 195, n. 4839, p. 340–342, jul. 1962.
36. KRIEGER, J. H. Vitamin B: the struggle toward synthesis. **Chemical & Engineering News Archive**, v. 51, n. 11, p. 16–19, 25, 27, 29, 12 mar. 1973.
37. ABUYAMAN, Omar. Vitamin B12 absorption and transport in mammals. in: MUTTI, E. **Vitamin B12 : chemical aspects, transport, cause and symptoms of deficiency, dietary sources, and health benefits**. New York: Nova Publishers, 2015.
38. BERG, J. M. et al. Biochemistry. **Biochemistry**. New York Macmillan Learning Wh Freeman, p. 476, 2002.
39. BUTZ, L. W.; DU VIGNEAUD, V. The formation of a homologue of cystine by the decomposition of methionine with sulfuric acid. **Journal of Biological Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 135–142, dez. 1932.
40. VENÂNCIO, L. de S.; BURINI, R. C.; YOSHIDA, W. B.. Hiper-homocisteinemia na doença arterial periférica. **J Vasc Bras**, vol.3, n.1,p.31-37, 2004
41. RIBEIRO, Diogo Farias . **Homocisteína apresenta comportamento intensidade**: dependentes de ratos Wistar submetidos a exercício físico agudo natação. Londrina, 2016 Dissertação (Educação Física) - UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA, Londrina, 2016. Disponível em: <http://www.bibliotecadigital.uel.br/document/?code=vtls000206272>. Acesso em: 2 nov. 2021.
42. BARROSO, Maria Madalena Henriques Serras Vicente. **Caracterização dos efeitos provocados pela acumulação de S-adenosil-homocisteína na expressão dos genes envolvidos na biodisponibilidade de óxido nítrico**. Lisboa, 2009 Dissertação (Faculdade de Ciências) - Universidade de Lisboa, Lisboa 2009. Disponível em: https://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/1516/1/21555_ulfc080724_tm.pdf. Acesso em: 2 nov. 2021.
43. MATTSON, M. P.; SHEA, T. B. Folate and homocysteine metabolism in neural plasticity and neurodegenerative disorders. **Trends in Neurosciences**, v. 26, n. 3, p. 137–146, mar. 2003.
44. PAIVA, Camylla Sinezia dos Santos. Suplementação de B6, B12 e folato na hiper-homocisteinemia. Vitória de Santo Antão: Universidade Federal de Pernambuco, dissertação (TCC), 2011.
45. AZEVEDO, J.M.; FRANCO, M.M. S-adenosil-L-homocisteína como substância desmetilante de DNA no cultivo de células doadoras de núcleo. Belo Horizonte: Rev. Bras. Reprod. Anim., v.37, n.3, p.260-265, jul./set. 2013.
46. DEMINICE, Rafael; VILHENA, Rodrigo; PORTARI, Guilherme V.; JORDÃO, Alceu A. Suplementação de creatina, homocisteína e estresse oxidativo. Ribeirão Preto: 2007; v. 40, 3ª ed., p. 368-77, jul./set. 2007.
47. Selhub J. Homocysteine metabolism. **Annual Reviews Nutr**, p. 217-246, 1999.
48. CARDOSO, Inês Lopes. Homocisteína e a doença cardiovascular. **Revista da Faculdade de Ciências da Saúde**. Porto: Edições Universidade Fernando Pessoa. ISSN 1646-0480. 6 (2009) 198-206.
49. GRIESER, Daiane de Oliveira. **Relações entre aminoácidos sulfurosos e colina para codornas de corte em crescimento**. Maringá, 2015 Tese (Centro de Ciências Agrárias) - UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ, Maringá, 2015. Disponível em: <http://repositorio.uem.br:8080/jspui/bitstream/1/1616/1/000220735.pdf>. Acesso em: 2 nov. 2021.
50. BAPTISTA, Carlos Gustavo. **Metabolismo de serina**: caracterização de serina hidroximetiltransferase de Trypanosoma cruzi. São Paulo, 2017 Tese (Instituto de Ciências Biomédicas) - UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, São Paulo, 2017. Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42135/tde-14072017-120148/publico/CarlosGustavoBaptista_Corrigida_Doutorado_I.pdf . Acesso em: 2 nov. 2021.
51. BROSANAN, M. E. et al. Division of labour: how does folate metabolism partition between one-carbon metabolism and amino acid oxidation? **Biochemical Journal**, v. 472, n. 2, p. 135–146, 1 dez. 2015.
52. POWERS, H. J.; MCDOWELL, I. F. W.; MOAT, S. J. Letter by Powers et al Regarding Article, "Riboflavin Lowers Homocysteine in Individuals Homozygous for the MTHFR 677C→T Polymorphism." **Circulation**, v. 114, n. 4, 25 jul. 2006.
53. BYDLOWSKI, S. P.; MAGNANELLI, A. C.; CHAMONE, D. DE A. F. Hiper-homocisteinemia e doenças vaso-occlusivas. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 71, n. 1, p. 69–76, jul. 1998.
54. ZEISEL, S. H.; BLUSZTAJN, J. K. Choline and Human Nutrition. **Annual Review of Nutrition**, v. 14, n. 1, p. 269–296, jul. 1994.
55. BONA, Diego de. **Biocolina vegetal em substituição do cloreto de colina na nutrição de poedeiras**. Chapecó, 2020 Dissertação (Zootecnia) - UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA, Chapecó, 2020. Disponível em: <https://sistemabu.udesc.br/pergamumweb/vinculos/000086/000086af.pdf>. Acesso em: 5 nov. 2021.
56. GRACIANO, T. S. et al. Desempenho e morfologia hepática de juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com dietas suplementadas com metionina e colina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 7, p. 738, jul. 2010.
57. CARDOSO, Inês Lopes. Homocisteína e a doença cardiovascular. **Revista da Faculdade de Ciências da Saúde**. Porto: Edições Universidade Fernando Pessoa. ISSN 1646-0480. 6 (2009) 198-206.
58. BYDLOWSKI, S. P.; MAGNANELLI, A. C.; CHAMONE, D. DE A. F. Hiper-homocisteinemia e doenças vaso-

- oclusivas. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 71, n. 1, p. 69–76, jul. 1998.
59. FERRARI, Adriana. **Folato e nutrientes envolvidos no ciclo do carbono-1 em pacientes pré-tratamento por adenocarcinoma colorretal em um centro de referência oncológica na região sudeste do Brasil**. São Paulo, 2012 Dissertação (Pós-Graduação em Ciências) - Fundação Antonio Prudente, São Paulo, 2012.
60. UELAND, P. M.; HOLM, P. I.; HUSTAD, S. Betaine: a key modulator of one-carbon metabolism and homocysteine status. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)**, v. 43, n. 10, 1 Jan. 2005.
61. NERBASS, F. B.; DRAIBE, S. A.; CUPPARI, L. Hiperhomocisteinemia na insuficiência renal crônica. **Revista de Nutrição**, v. 18, n. 2, p. 239–249, abr. 2005.
62. SELHUB, J. Homocysteine metabolism. **Annual Review of Nutrition**, v. 19, n. 1, p. 217–246, jul. 1999.
63. ROBINSON, K. Homocysteine, B vitamins, and risk of cardiovascular disease. **Heart**, v. 83, n. 2, p. 127–130, 1 fev. 2000
64. DEMINICE, R. et al. Suplementação de creatina, homocisteína e estresse oxidativo. **Medicina (Ribeirão Preto. Online)**, v. 40, n. 3, p. 368-377, 30 set. 2007.
65. BANDARIAN, V. et al. Domain alternation switches B12-dependent methionine synthase to the activation conformation. **Nature Structural Biology**, v. 9, n. 1, p. 53–56, 3 dez. 2001.
66. OBEID, R.. **Vitamin B12: Advances and Insights**. [s.l.] Crc Press, 2017.
67. RODRIGUES, Claudia Patrícia Canteiro. **Deficiência da vitamina B12 como um fator de na demência do idoso**. Coimbra, 2015 Dissertação (Faculdade de Medicina) - Universidade de Coimbra, Coimbra, 2015.
68. ZOCCOLELLA, S. et al. Elevated plasma homocysteine levels in patients with multiple sclerosis are associated with male gender. **Journal of Neurology**, v. 259, n. 10, p. 2105–2110, 16 mar. 2012.
69. HOOSHMAND, B. et al. Homocysteine and holotranscobalamin and the risk of Alzheimer disease: A longitudinal study. **Neurology**, v. 75, n. 16, p. 1408–1414, 18 out. 2010.
70. VILAÇA, C. de et al. Metabolismo da homocisteína em doenças neurológicas. **Rev Bras Neurol**. v. 51, n. 3, p. 73-78, 2015.
71. VANNUCCHI, H.; MELO, S. S. Hiper-homocisteinemia e risco cardiometabólico. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, n. 5, p. 540–549, jul. 2009.
72. ALCÂNTARA, Fernanda Farias de. **Homocisteína vitamina B12 ácido fólico como biomarcadores de triagem**. Belém, 2018 Dissertação (Programa de Pós-graduação em neurociências e biologia celular (PPGNBC)) - UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ, Belém, 2018.
73. ŠKOVIEROVÁ, H. et al. The Molecular and Cellular Effect of Homocysteine Metabolism Imbalance on Human Health. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 10, p. 1733, 20 out. 2016.
74. NEXO, E.; HOFFMANN-LÜCKE, E. Holotranscobalamin, a marker of vitamin B-12 status: analytical aspects and clinical utility. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 94, n. 1, p. 359S365S, 1 jul. 2011.
75. FRANCO, D. C. Z; FLORENTINO, T. P. C; SILVA, K. C. Avaliação de vitamina B12 em moradores de Juiz de Fora – MG. **Anais de Jornada Científica e Tecnologia e Simpósio de Pós-graduação do IFSULDEMINAS**, 27 out. 2020.
76. BUTLER, C. C. Oral vitamin B12 versus intramuscular vitamin B12 for vitamin B12 deficiency: a systematic review of randomized controlled trials. **Family Practice**, v. 23, n. 3, p. 279–285, 3 fev. 2006.
77. WANG, H. et al. Oral vitamin B12 versus intramuscular vitamin B12 for vitamin B12 deficiency. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, 15 mar. 2018.
78. MEANS, R. T; Fairfield, K. M. **Treatment of vitamin B12 and folate deficiencies**. Waltham (MA): UpToDate, Inc.; 2018.
79. KUZMINSKI, A. M. et al. Effective Treatment of Cobalamin Deficiency With Oral Cobalamin. **Blood**, v. 92, n. 4, p. 1191–1198, 15 ago. 1998.
80. BOLAMAN, Z. et al. Oral versus intramuscular cobalamin treatment in megaloblastic anemia: A single-center, prospective, randomized, open-label study. **Clinical Therapeutics**, v. 25, n. 12, p. 3124–3134, dez. 2003.
81. SCHARNWEBER, A. R.; ZIMBALIST, R. J. Vitamin B12 Deficiency Optic Neuropathy: a Teaching Case Report. **Optometric Education**: v. 42, n. 3, 2017.