

ANÁLISIS DE LAS VARIABLES CLÍNICAS Y BIOQUÍMICAS DE LA DEFICIENCIA DE VITAMINA B₁₂ EN EDAD PEDIÁTRICA

ANALYSIS OF THE CLINICAL AND BIOCHEMICAL VARIABLES OF THE DEFICIENCY OF VITAMIN B₁₂ IN PEDIATRIC AGE

Autora: Bárbara Fernández Romero

Tutores: Juan Pablo García Íñiguez, Gloria Bueno Lozano

Trabajo de Fin de Máster
Máster Universitario en Condicionantes Genéticos, Nutricionales y Ambientales del Crecimiento y Desarrollo

Curso académico 2019-2020



Universidad
Zaragoza



Título:

Análisis de las variables clínicas y bioquímicas de la deficiencia de vitamina B₁₂ en edad pediátrica.

Analysis of the clinical and biochemical variables of the deficiency of vitamin B₁₂ in pediatric age.

Autor o autora:

Bárbara Fernández Romero

DNI:

45315977C

Tutor o tutora académico/a:

Juan Pablo García Íñiguez

DNI del tutor o tutora:

16590947N

Línea de investigación en la que se enmarca el trabajo:

Nutrición y Metabolismo en el desarrollo humano.

Centro en el que se ha realizado dicho trabajo:

Unidad de Neurometabolismo. Hospital Infantil Miguel Servet.

RESUMEN

Introducción: La vitamina B₁₂ es fundamental para el crecimiento, la diferenciación y el desarrollo celular. Es una vitamina hidrosoluble esencial para el funcionamiento normal del sistema nervioso, hematopoyesis y síntesis de ácido desoxirribonucleico.

Objetivos: Identificar aquellos pacientes con déficit de vitamina B₁₂, establecer relación entre sus características y la patología que presentan y determinar si existe relación entre los niveles de vitamina B₁₂ y la gravedad del cuadro.

Material y métodos: Estudio longitudinal, retrospectivo y observacional en el que se incluyen pacientes controlados en consultas de Neurometabolismo del Hospital Infantil Miguel Servet diagnosticados de deficiencia de vitamina B₁₂.

Resultados: De 106 pacientes, 62,3% fueron varones. La edad mediana fue de 0,29 años. El 53,3% de los pacientes fue alimentado con lactancia materna exclusiva y el 1,9% de las madres fueron vegetarianas. El 16% consultaron por apneas, 14,2% por episodios paroxísticos, 8,5% por atragantamientos, 25,5% por cribado neonatal alterado y el 35,8% había sido diagnosticado como hallazgo analítico por otro motivo. El valor medio de vitamina B₁₂ al diagnóstico fue de 197,98 pg/mL ($\pm 72,53$ DE). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas sobre la efectividad a la hora de administrar vitamina B₁₂ en sus diferentes modalidades y el efecto sobre los niveles de vitamina B₁₂ en las múltiples dosis recibidas.

Conclusiones: La deficiencia de vitamina B₁₂ es una causa rara pero tratable de una amplia variedad de síntomas en niños. El diagnóstico y tratamiento precoz es crucial para evitar daños a largo plazo.

Palabras claves: Vitamina B₁₂, deficiencia, cobalamina, homocisteína, ácido metilmalónico.

ABSTRACT

Introduction: Vitamin B₁₂ is fundamental for growth, differentiation and cell development. It is a water-soluble vitamin essential for the normal functioning of the nervous system, haematopoiesis and synthesis of deoxyribonucleic acid.

Objectives: To identify those patients with deficiency of vitamin B₁₂, to establish a relationship between their characteristics and the pathology that they have and determine if there exists a relationship between the levels of vitamin B₁₂ and the severity of the disease.

Material and methods: Longitudinal, retrospective and observational study in which patients controlled in consultations of Neurometabolism of Children Hospital Miguel Servet diagnosed with deficiency of vitamin B₁₂ are included.

Results: From 106 patients, 62.3% were male. The average age was about 0.29 years. 53.3% of patients were fed with exclusive breast-feeding and 1.9% of mothers were vegetarian. 16% of patients sought medical help for apneas, 14.2% for paroxysmal episodes, 8.5% for chokings, 25.5% for impaired neonatal screening and 35.8% had been diagnosed as analytical finding for another reason. The average value of vitamin B₁₂ to the diagnosis was of 197.98 pg/mL (± 72.53 SD). No statistically significant differences were found about the efficacy when it comes to giving vitamin B₁₂ in its different forms and the effect on the levels of vitamin B₁₂ in the multiple doses received.

Conclusions: The deficiency of vitamin B₁₂ is an unusual cause but treatable of a wide variety of symptoms in children. The early diagnosis and treatment is crucial to prevent long-term damage.

Keywords: Vitamin B₁₂, deficiency, cobalamin, homocysteine, methylmalonic acid

VISTO BUENO DEL TUTOR



Facultad de Medicina
Universidad Zaragoza

ANEXO II:

INFORME / EVALUACIÓN DEL DIRECTOR

ALUMNO BÁRBARA FERNÁNDEZ ROMERO

TÍTULO DEL TRABAJO (en español):

ANÁLISIS DE LAS VARIABLES CLÍNICAS Y BIOQUÍMICAS DE LA DEFICIENCIA DE VITAMINA B12 EN EDAD PEDIÁTRICA.

TÍTULO DEL TRABAJO (en inglés):

ANALYSIS OF THE CLINICAL AND BIOCHEMICAL VARIABLES OF THE DEFICIENCY OF VITAMIN B12 IN PEDIATRIC AGE.

Fecha de Presentación / Depósito (Sello): 01/12/2020

DIRECTOR (-ES) (Departamento):

INFORME

Yo, Juan Pablo García Íñiguez con DNI 16590947N, doy el visto bueno de la realización y ejecución de este trabajo que se ha desarrollado durante el curso académico 2019-2020. También doy el visto bueno para su presentación y evaluación posterior.

Fecha: 01/12/2020

Fdo.: 

ABREVIATURAS

AA: Aminoácidos

AC: Acilcarnitinas

ACTH: Hormona adrenocorticotrópica

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

BRUE: Episodio Breve Resuelto Inexplicado

CEICA: Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón

Co-A: Coenzima-A

CPT I: Deficiencia de Carnitín Palmitoiltransferasa

C3: Propionilcarnitina

C4: Butirilcarnitina

C4DC: Metilmalonilcarnitina

C5OH: 3 Hidroxiiisovalerilcarnitina

EEG: Electroencefalograma

ECO-tf: Ecografía Transfontanelar

FI: Factor Intrínseco

g: gramo

Hb: Hemoglobina

Holo-TC: holotranscobalamina

L: litro

mg: miligramo

mL: mililitro

µg: Microgramo

MMA: Ácido Metilmalónico

TC-II: Transcobalamina II

VCM: Volumen Corpuscular Medio

tHcy: Homocisteína Plasmática Total

SNC: Sistema Nervioso Central

ÍNDICE

	Página
1. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN DEL TEMA	
Vitamina B ₁₂	
1.1. Introducción	9
1.2. Definición	9
1.3. Metabolismo	10
1.4. Fuentes para su obtención y leche materna	11
1.5. Funciones principales	13
1.6. Causas de su déficit en edades pediátricas	13
1.7. Ingesta recomendada	15
1.8. Clínica y forma de presentación del déficit de B ₁₂ en la infancia	15
1.9. Diagnóstico y marcadores biológicos	17
1.10. Tratamiento	19
1.11. Pronóstico	20
Justificación del tema	21
2. OBJETIVOS	22
3. HIPÓTESIS	22
4. METODOLOGÍA	23
4.1. Diseño del estudio	24
4.2. Muestra del estudio	24
4.3. Criterios de inclusión y exclusión de la muestra	24
4.4. Variables del estudio	24
4.5. Análisis estadístico del estudio	26
4.6. Aspectos éticos	26
5. RESULTADOS	27
5.1. Estudio descriptivo	28
5.1.1. Características de la muestra	28
5.1.2. Edad al diagnóstico	29
5.1.3. Alimentación recibida	29
5.1.4. Formas clínicas de presentación	30
5.1.5. Parámetros analíticos al inicio del seguimiento	31
5.1.6. Hallazgos en la exploración física	32
5.1.7. Datos maternos	32
5.1.8. Otras pruebas complementarias	32
5.1.9. Tratamiento recibido	33
5.1.10. Resultados analíticos tras tratamiento	34
5.1.11. Diagnóstico principal y diagnósticos secundarios	35
5.1.12. Evolución y destino de los pacientes	35
5.2. Estudio analítico	36
5.2.1. Niveles de vitamina B ₁₂ al inicio	36
5.2.2. Tratamiento con vitamina B ₁₂	38
6. DISCUSIÓN	40
7. CONCLUSIONES	45
LIMITACIONES DEL ESTUDIO Y FORTALEZAS	46
LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN FUTURAS	46
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN DEL TEMA

1. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN DEL TEMA

VITAMINA B₁₂

1.1. Introducción

La vitamina B₁₂ o cobalamina es una vitamina hidrosoluble esencial para el funcionamiento normal del sistema nervioso, así como para la hematopoyesis y formación de otras proteínas¹. Su deficiencia puede provocar un amplio espectro de manifestaciones hematológicas y neurológicas ya que desempeña un papel clave como coenzima en la síntesis de ácido desoxirribonucleico (ADN) y la maduración celular, así como en la síntesis de lípidos neuronales². El organismo humano no es capaz de sintetizarla y debe obtenerla de la dieta, principalmente de alimentos de origen animal (carne, leche/derivados, huevos y pescado). Los alimentos de origen vegetal no contienen vitamina B₁₂ salvo que sean fortificados.

1.2. Definición

El término cobalamina se refiere a una familia de compuestos con una estructura determinada. La vitamina B₁₂ es una cobalamina que resulta de la unión asimétrica de 4 anillos pirrólicos, en torno a un átomo central de cobalto. En esta estructura, el cobalto se une a diferentes radicales originando los diversos derivados de la cobalamina: cianocobalamina, hidroxicobalamina, metilcobalamina y desoxiadenosicobalamina³.

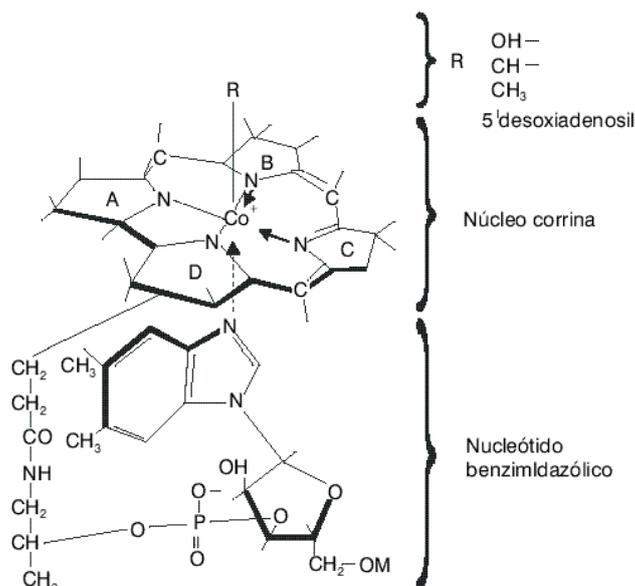


Figura 1. Estructura de la vitamina B₁₂. Fuente: Forrellat M et al (1999)³

La hidroxicobalamina y la cianocobalamina son formas no fisiológicas de la cobalamina. Ambas se transforman en el organismo de forma espontánea en metilcobalamina y 5' desoxiadenosilcobalamina que son las formas fisiológicamente activas o coenzimas de la vitamina B₁₂. La cianocobalamina por exposición a la luz y a los agentes reductores pasa rápidamente a la forma de hidroxicobalamina.

La mayor parte de la vitamina B₁₂ de las células y el hígado se encuentra en las mitocondrias en forma de 5' desoxiadenosilcobalamina, mientras que la metilcobalamina es la principal forma de cobalamina en el plasma.

Estructuralmente hablando, la B₁₂ es la vitamina más compleja y puede ser producida industrialmente únicamente por fermentación bacteriana.

1.3. Metabolismo

La vitamina B₁₂ se absorbe a nivel del íleon distal. En la dieta se encuentra unida a proteínas, siendo liberada por la acidez y proteólisis gástrica. Posteriormente, se une a proteína R (haptocorrina), secretada por las glándulas salivales y esofágicas. En el duodeno, el medio alcalino permite la liberación de B₁₂, uniéndose al factor intrínseco (FI). Este presenta alta afinidad por la vitamina B₁₂ en el medio alcalino duodenal⁴.

En el enterocito, el complejo FI-B₁₂ es captado por endocitosis mediada por cubilina. En el citoplasma de la célula endotelial, la vitamina B₁₂ es liberada y posteriormente ligada principalmente a transcobalamina II (TC- II), ingresando vía circulación portal al hígado y finalmente a todos los tejidos⁵.

La absorción de B₁₂ mediada por el FI es activa, muy eficiente y con un bajo nivel de saturación que se alcanza con dosis ingeridas de 2 µg. Existe un mecanismo de transporte pasivo, independiente de FI y no saturable. Sin embargo, sólo entre 1-2% de una dosis ingerida se absorbe por esta vía. No obstante, aunque su magnitud es reducida, el transporte pasivo adquiere importancia cuando disminuye o desaparece el FI y explica la adecuada absorción desde altas dosis orales (ej. 500-1.000 µg de vitamina B₁₂) en ausencia de FI o en pacientes gastrectomizados⁴.

La vitamina B₁₂ se almacena en el hígado (1.000-3.000 µg). Por esta razón, las manifestaciones de deficiencia se producen 3-6 años después de iniciada la deficiencia para sujetos con mecanismos de absorción normal sin ingesta de B₁₂ a través de la dieta o suplementos. En personas con absorción menos eficiente por atrofia gástrica, estas estimaciones se reducen a 2-4 años. Los requerimientos diarios

de B₁₂ en personas saludables alcanzan al 0,1% de los depósitos. Los signos de deficiencia se estima que aparecen cuando el pool corporal cae bajo 300 µg⁶.

1.4. Fuentes para su obtención y leche materna

La vitamina B₁₂ es sintetizada activamente por un gran número de bacterias intestinales que se hallan de modo habitual en el organismo humano, aunque el aprovechamiento de ésta es mínimo, ya que la síntesis ocurre en sitios muy distales del lugar de absorción fisiológica de la vitamina, lo que determina que prácticamente en su totalidad sea eliminada por las heces⁷. Ni los hongos, ni las plantas, ni los animales pueden sintetizarla. Solo las bacterias y las arqueobacterias tienen las enzimas necesarias para su síntesis⁸.

La vitamina B₁₂ se encuentra naturalmente presente en una amplia variedad de alimentos de origen animal y en ciertos alimentos fortificados con vitamina B₁₂ (Tabla 1). En la mayoría de los casos, una dieta equilibrada típica contendrá cantidades adecuadas de vitamina B₁₂ y folatos, con la notable excepción de que las dietas veganas no contienen vitamina B₁₂ en niveles adecuados ya que los alimentos de origen vegetal no contienen vitamina B₁₂ salvo que sean fortificados^{1,9}.

- Los alimentos más ricos en vitamina B₁₂ (>10 µg/100 g de peso húmedo): las vísceras como el hígado, los riñones o el corazón de ovinos y bovinos, y los bivalvos como las almejas y las ostras⁷.
- Existen cantidades moderadas de vitamina B₁₂ (3 a 10 µg/100 g de peso húmedo) en la leche en polvo desnatada, así como en algunos pescados y mariscos (cangrejos, peces de roca, salmón y sardinas), y en la yema de huevo.
- En la carne, otros pescados y mariscos (langosta, lenguados, merluza, pez espada, atún) y quesos fermentados se encuentran cantidades discretas de cobalamina (1 a 3 µg/100 g de peso húmedo)⁷.
- Los productos lácteos líquidos y los quesos cremosos contienen menos de 1 microg/100 g de peso húmedo⁷.

Alimento	Vitamina B₁₂ (μgr/100 g)
Almejas	100
Ostras	14
Caballa	10
Salmón	10
Sardinas	10
Mejillones	10
Atún	5
Merluza, pescadilla	1
Langostinos	1
Lenguado	1
Hígado de vaca, pato, oca, foie	90
Conejo	10
Ternera	4
Cordero	2
Pechuga de pollo	0,6
Queso suizo	4
Queso cottage	0,7
Yogur natural	1,3
Leche	0,6
Huevos (yema)	1,7
Cerveza	0,1

Tabla 1. Cantidad de vitamina B₁₂ contenida en distintos alimentos. Fuente: García Jiménez MC (2018)⁷

En general la cobalamina no se destruye por la cocción, pero en condiciones alcalinas y en presencia de vitamina C puede perderse cierta cantidad de vitamina cuando ésta se realiza a altas temperaturas. Asimismo, el procesamiento de la leche puede provocar pérdidas considerables de cobalamina (7% por pasteurización de 2 a 3 segundos y hasta 30% por hervir de 2 a 5 minutos), lo que hace que la leche resulte insuficiente como fuente única de vitamina B₁₂⁷.

Sin embargo, los niveles de vitamina B₁₂ en la leche materna están altamente correlacionados con los niveles de B₁₂ en el suero materno¹⁰. Aunque los niveles maternos de vitamina B₁₂ tienden a aumentar después del parto, el aumento depende de las reservas antes del embarazo, la ingesta de B₁₂ (dieta y suplementos) y la depleción de las reservas durante el embarazo. En madres bien nutridas, las

concentraciones de vitamina B₁₂ en la leche son adecuadas. Sin embargo, las concentraciones son bajas en mujeres vegetarianas estrictas (veganas), madres desnutridas o con anemia perniciosa, incluso si la madre no muestra signos de deficiencia¹¹.

Las concentraciones reportadas de B₁₂ en la leche humana varían sustancialmente entre 150 a 700 pmol por litro. Los niveles en la leche humana caen progresivamente durante el período de lactancia. La ingesta estimada de B₁₂ del lactante amamantado es máximo a las 12 semanas y se reduce en un 50% en la semana 24. La mayoría de las fórmulas infantiles preparadas comercialmente están enriquecidas con B₁₂ hasta concentraciones de 800–1,200 pmol por litro¹².

1.5. Funciones principales

La vitamina B₁₂ tiene numerosas funciones biológicas, pero sobre todo es fundamental para la síntesis de ADN y para la hematopoyesis¹³. Desempeña un papel esencial en el desarrollo del Sistema Nervioso Central (SNC) y es esencial para la preservación de la vaina de la mielina alrededor de las neuronas y para la síntesis de neurotransmisores¹⁴. Por todo ello es importante durante el crecimiento y el desarrollo del SNC sobre todo en la infancia, ya que es esencial para la división celular y la reparación de tejidos, la formación y maduración de glóbulos rojos, y el desarrollo del cerebro¹⁵.

Además, es un cofactor esencial de las enzimas metioninasintetasa convertidora de homocisteína así como la conversión de metilmalonil coenzima-A (co-A) a succinil co-A, motivo por el cual los metabolitos de estas enzimas –homocisteína y ácido metilmalónico (MMA)- se verán aumentados en su deficiencia aún en ausencia de sintomatología, constituyendo uno de los análisis de laboratorio de mayor sensibilidad¹⁶.

1.6. Causas de su déficit en edades pediátricas

La causa más frecuente de su déficit es nutricional; en época de lactante, fundamentalmente, es debido a la ingesta insuficiente de vitamina B₁₂ de la madre en aquellos que toman pecho¹⁷. Múltiples son los trabajos que relacionan dietas vegetarianas con bajos niveles de cobalamina en adultos¹⁸.

El nivel de cobalamina en el recién nacido es alto y disminuye durante las primeras seis semanas, ocurriendo un patrón inverso en las madres. El estatus

materno de vitamina B₁₂ predice y se relaciona directamente con el del niño al nacimiento. En la Tabla 2 se exponen las principales causas de deficiencia de vitamina B₁₂ en edades pediátricas¹⁹.

Ingesta inadecuada	Vegetarianos estrictos Niños amamantados por madres vegetarianas estrictas o con aportes insuficientes de B ₁₂
Alteración de la producción de FI	Anemia perniciosa congénita Anemia perniciosa juvenil Gastrectomía parcial o total
Defectos en la absorción no debidos al déficit de FI	Congénito (enfermedad de Imerslund-Gräsbeck) Resección ileal, ileitis crónica Enfermedad infiltrativa del íleon (linfoma) Síndrome de malabsorción (enfermedad celíaca, esprue tropical, insuficiencia pancreática crónica) Diarrea crónica
Competencia por vitamina B12	Sobrecrecimiento bacteriano (diverticulosis, ciego no funcional) Infestación por <i>Diphyllobothrium latum</i>
Requerimientos aumentados	Enfermedades neoplásicas Hipotiroidismo
Utilización alterada	Defectos enzimáticos Defectos cuantitativos o cualitativos de la transcobalamina II

Tabla 2. Causas de deficiencia de vitamina B12 en la infancia. Fuente: Pérez V et al (2005)¹⁹

Además, ciertos medicamentos pueden reducir los niveles de vitamina B12 como los inhibidores de la bomba de protones, los antagonistas de los receptores de histamina y la metformina²⁰.

1.7. Ingesta recomendada

Aunque depende de la edad (Tabla 3), los requerimientos mínimos diarios de vitamina B₁₂ suelen quedar completamente cubiertos por una alimentación mixta normal que contenga entre 5 y 30 µg de cobalamina, de los que se absorben de 1 a 5 µg¹.

En el hombre, las reservas totales de cobalaminas son mucho mayores que los requerimientos diarios por lo que las reservas corporales son suficientes para cubrir los requerimientos diarios por un período de 3 a 4 años después que se ha instaurado un régimen de baja ingesta o malabsorción de vitamina B₁₂⁷.

Edad	Cantidad recomendada (µg)
RN-6 meses	0,4
7-12 meses	0,5
1-3 años	0,9
4-8 años	1,2
9-13 años	1,8
14-18 años	2,4
Adultos	2,4
Mujeres embarazadas	2,6
Mujeres lactantes	2,8

Tabla 3. Cantidades diarias recomendadas de vitamina B₁₂. Fuente: Martini L et al (2020)²¹

1.8. Clínica y forma de presentación del déficit de B₁₂ en la infancia

Después del déficit de hierro, la deficiencia de B₁₂ y especialmente de folatos, son las causas más importantes de anemia nutricional. Las manifestaciones de deficiencia derivan de una disminución de la síntesis de ácidos nucleicos alterando la maduración nuclear y afectando preferentemente a células con rápida proliferación. Los signos y síntomas se observan principalmente a nivel hematológico y en el caso de B₁₂, además, a nivel neurológico. Sin embargo, la sintomatología es más probable de ocurrir en deficiencias muy severas⁴.

La deficiencia de vitamina B₁₂ produce, entre otras, alteraciones hematológicas, neurológicas y psiquiátricas (Tabla 4)^{22,23,24}.

<p>Hematológicas</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Disminución del nivel de hemoglobina con volumen corpuscular medio (VCM) aumentado (anemia macrocítica) e índice reticulocitario disminuido. - Puede acompañarse de neutropenia y menos frecuentemente de trombocitopenia y leucopenia. - Es característica la existencia de más del 5% de los neutrófilos con un índice de lobulación mayor a igual que 5 (hipersegmentación), lo que constituye un signo temprano de megaloblastosis cuando la causa es nutricional. - Cuando la anemia megaloblástica coexiste con anemia microcítica la morfología puede ser normocítica o incluso microcítica, aún así se encontrarán rasgos característicos del proceso megaloblástico.
<p>Neurológicas</p>	<p>Los signos neurológicos pueden ser los únicos presentes.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Los síntomas más comunes observados durante la infancia son irritabilidad, letargia, retraso psicomotor, episodios paroxísticos, temblor, mioclonias, hipotonía y convulsiones - Puede aparecer también pérdida de apetito, rechazo a la alimentación sólida, palidez y fallo de medro. - Los lactantes afectados pueden presentar un desarrollo normal los primeros 4-6 meses.

Tabla 4. Manifestaciones clínicas de la deficiencia de vitamina B₁₂ en la infancia. Fuente: Reinoso Pérez FL et al (2008)²²

La clínica neurológica suele ser totalmente diferente a la descrita en adultos, donde se describe mielopatía, neuropatía periférica, deterioro cognitivo y atrofia óptica. A nivel central, la deficiencia de B₁₂ puede producir disminución de la memoria, psicosis y ocasionalmente delirio. También se asocia en estas edades un pobre estado nutricional de B₁₂ con la progresión de las enfermedades de Alzheimer y Parkinson²⁵.

Por otro lado, la deficiencia de vitamina B₁₂, así como de folatos incrementan los niveles de homocisteína plasmática total (tHcy). Numerosos estudios asocian hiperhomocisteinemia y enfermedad cardiovascular, accidente vascular cerebral, riesgo de eclampsia, preeclampsia, nacimientos de pretérmino, cáncer y deterioro cognitivo⁴.

1.9. Diagnóstico y marcadores biológicos

La vitamina B₁₂ es un micronutriente soluble en agua indispensable cuya deficiencia, ya sea nutricional o debido a errores innatos del metabolismo de la cobalamina, conduce a la acumulación de tHcy y MMA. Para determinar el estado de vitamina B₁₂, los biomarcadores séricos que se utilizan preferiblemente son tHcy en plasma y MMA en plasma y/o orina, además de la vitamina B₁₂ sérica total y su forma bioactiva unida a proteínas, la holotranscobalamina (holo-TC)²⁶.

a) **Vitamina B₁₂ sérica.** Es la prueba diagnóstica estándar utilizada para el diagnóstico de déficit de vitamina B₁₂. Inconvenientes:

- Los intervalos de referencia para los valores normales son método-dependientes y por ello no hay valores universales establecidos.
- El rango de normalidad es muy amplio y no hay consenso respecto a los valores de normalidad en niños.
- Los niveles de B₁₂ sérica no reflejan su estatus intracelular. Niveles superiores a 400 pg/mL se consideran suficientes, por lo que niveles por debajo obliga a investigar si existe deficiencia y para ello se recomienda la determinación de tHcy y MMA.

b) **Holo-TC (vitamina B₁₂ unida a transcobalamina).** Es la fracción metabólicamente activa de la vitamina B₁₂. Es liberada desde los enterocitos a la sangre portal y al plasma para su depósito y utilización en los tejidos respectivamente. Debido a su corta vida media y su capacidad de penetrar en las células, la holo-TC es en teoría un marcador sensible de la deficiencia de B₁₂, pero de momento no es una prueba que se realice de forma rutinaria en la mayoría de los laboratorios ya que no se encuentra disponible para su uso de manera generalizada²⁷.

c) **tHcy:** La deficiencia de vitamina B₁₂ produce la elevación de tHcy, cuyos niveles varían en la población según diversos factores como la edad y el sexo, entre otros. Un nivel de tHcy ≥ 6.5 μmol por litro se ha sugerido como un nivel de corte para definir la deficiencia de B₁₂ en lactantes⁷. Inconvenientes:

- No es un marcador específico de la deficiencia de cobalamina ya que las concentraciones de tHcy también están elevadas en la deficiencia de folato, deficiencia de vitamina B₆ y en pacientes con insuficiencia renal, hipotiroidismo, y como resultado de ciertos polimorfismos genéticos²⁸.

- Durante los 2 primeros años de vida, la tHcy es un marcador fiable del estado de la vitamina B₁₂, mientras que en niños mayores y adultos reflejan principalmente el estado de folato.
- d) **MMA plasma y/o orina.** Su elevación es el marcador más específico y sensible de deficiencia de vitamina B₁₂. En lactantes amamantados los niveles de MMA en plasma y/o orina están inversamente relacionados con los niveles de B₁₂. Inconvenientes:
- Disponibilidad para su realización.
 - Elevado coste.
 - La insuficiencia renal y los errores congénitos raros del metabolismo que afectan la actividad de la metilmalonato-CoA mutasa son otras condiciones conocidas que causan concentraciones marcadamente elevadas de MMA²⁹.

La infancia y adolescencia son épocas de rápido crecimiento, durante las cuales la demanda de B₁₂ es elevada y su estatus sufre cambios importantes. Además, los niveles de cobalamina, MMA y tHcy, presentan cambios durante la edad pediátrica, especialmente en el primer año de vida, por lo que hoy en día no existe consenso sobre límites normales de los valores de vitamina B₁₂ en edades pediátricas⁷.

En el estudio transversal de Bjorke et al. (2003), con una muestra de 700 pacientes en edades comprendidas entre 4 días y 19 años, se analizan los niveles de vitamina B₁₂, folato sérico, tHcy y MMA en plasma, y proponen valores de referencia para los distintos grupos de edad. Entre los hallazgos, obtienen que durante los primeros 6 meses de vida los niveles de vitamina B₁₂ son inferiores y las concentraciones plasmáticas de MMA, tHcy y folato sérico superiores a las concentraciones detectadas en los otros grupos de edad (Tabla 5)³⁰.

	4 días	6 semanas- 6 meses	1 año – 10 años	10.5 – 15 años	15 – 19 años
Vitamina B₁₂ (pg/mL)					
Media	425	294	746	590	500
Rango	322-634	199-393	618-925	399-716	398-612
Folato sérico (ng/mL)					
Media	11.9	13.9	6.5	5.2	4.2
Rango	9-16	9.3-19.1	5.2-9.3	3.9-6.6	3.3-5.5
MMA plasma (µmol/L)					
Media	0.29	0.78	0.13	0.17	0.14
Rango	0.24-0.39	0.36-1.51	0.11-0.17	0.13-0.22	0.12-0.18
tHcy plasma (µmol/L)					
Media	6.22	7.47	5.24	6.52	7.75
Rango	5.00-7.48	6.10-9.22	4.68-5.97	5.70-7.75	6.61-9.12

Tabla 5. Valores normales de vitamina B₁₂, folato sérico, tHcy y MMA en plasma según rango de edad en la infancia.
Fuente: Bjorke A et al (2003)³⁰

1.10. Tratamiento

No existe un consenso universal para el tratamiento del déficit de vitamina B₁₂ ya que no hay una única pauta de tratamiento establecida. Las guías para el diagnóstico y tratamiento de los defectos de la cobalamina y el folato de la *British Committee for Standards in Haematology* establecen dos pautas posibles³¹:

- a) Hidroxicobalamina intramuscular. Pauta de 1 mg a días alternos durante dos semanas, seguido por una dosis al mes durante tres meses.
 - En caso de anemia perniciosa, esta pauta debe de continuarse durante toda la vida.

- Si la deficiencia de B₁₂ es debida a otra causa, el tratamiento debe de continuarse hasta que se mejoren los índices hematológicos.
 - En caso de sintomatología neurológica se administra la misma dosis hasta que no se observa una mejoría sintomática adicional, seguida de una administración cada dos meses.
- b) Cianocobalamina a dosis elevadas (1000-2000 µg), vía oral y administrada por las mañanas con el estómago vacío. Pauta alterna: 1 mg al día durante una semana, posteriormente 1 mg a días alternos durante dos semanas, después 1 mg dos días a la semana durante dos semanas y por último después 1 mg una vez por semana.

Diversos estudios demuestran que la reposición de B₁₂ puede llevarse a cabo eficazmente por vía oral ya que el pequeño porcentaje de vitamina que se absorbe pasivamente en el intestino (1-2%) podría ser suficiente para conseguir, con dosis altas de vitamina B₁₂, concentraciones adecuadas en el organismo, incluso en casos de ausencia de FI por anemia perniciosa o por gastrectomía, de aclorhidria, malabsorción o falta de integridad del íleon terminal^{32,33}.

1.11. Pronóstico

En la mayoría de los casos publicados, está descrita una rápida recuperación clínica durante los primeros días de tratamiento. La reversibilidad de la apatía, hipotonía, anorexia y movimientos involuntarios suele ser muy evidente y la atrofia cerebral y la desmielinización suelen revertirse en varios meses. A pesar del tratamiento precoz, puede haber retraso del desarrollo cognitivo y psicomotor a largo plazo.

El único factor pronóstico descrito hasta ahora es la severidad y la duración de la deficiencia³⁴ así como el diagnóstico por encima de los diez meses³⁵.

JUSTIFICACIÓN DEL TEMA

La literatura científica revisada pone de manifiesto que el diagnóstico precoz de la deficiencia de B₁₂ evita la aparición de secuelas neurológicas irreversibles ante la instauración de un tratamiento efectivo. Las madres vegetarianas o no vegetarianas, que siguen una dieta pobre de alimentos con contenido elevado de vitamina B₁₂ deben de ser advertidas de los daños severos y, no siempre reversibles, que causa esta deficiencia en los niños alimentados exclusivamente al pecho.

Dado que los hijos de madres vegetarianas que toman lactancia materna, los niños alimentados con dietas vegetarianas estrictas, o aquellos que padecen síndromes de malabsorción -con afectación principalmente del íleon-, tienen mayor riesgo de déficit de vitamina B₁₂, supone de vital importancia analizar la relación existente entre dicho déficit y determinadas patologías. Igualmente, es necesario conocer el grado de déficit de B₁₂ y la severidad de las patologías que se presentan, ya que la instauración precoz de tratamiento -cuando está indicado-, va a influir en el pronóstico a largo plazo de estos pacientes.

Así, ante la falta de consenso acerca de los valores de referencia para las edades pediátricas, este trabajo pretende, además de actualizar los conocimientos de un tema tan relevante, establecer una correlación entre la clínica y el valor de vitamina B₁₂ en la infancia.

2. OBJETIVOS

Objetivo principal

- Identificar a los pacientes con déficit de vitamina B₁₂ y estudiar si existe relación entre las características de estos y la patología que presentan, así como describir el amplio espectro clínico de los pacientes y poder determinar si existe relación entre los niveles de vitamina B₁₂ y la gravedad del cuadro.

Objetivos secundarios

- Analizar las diferentes variables bioquímicas que permitan diagnosticar la deficiencia de vitamina B₁₂.
- Comprobar si existen diferencias en el tratamiento según la vía de administración elegida.

3. HIPÓTESIS

Existe una relación causal entre el déficit de vitamina B₁₂ y determinadas patologías de la edad pediátrica. Del mismo modo, el grado del déficit se correlaciona con la severidad del cuadro clínico.

La hipótesis planteada en este trabajo de investigación consiste en establecer o no relación causal entre el déficit de vitamina B₁₂ y las patologías previamente explicadas, así como intentar correlacionar el grado del déficit con la severidad de dicha sintomatología en una cohorte de pacientes pediátricos controlados en la Unidad de Neurometabolismo del Hospital Infantil Miguel Servet.

METODOLOGÍA

4. METODOLOGÍA

4.1. Diseño del estudio

Se trata de un estudio longitudinal, retrospectivo y observacional en el que se incluyen pacientes controlados en las consultas de Neurometabolismo del Hospital Infantil Miguel Servet tratados con vitamina B₁₂ tras el diagnóstico de deficiencia de esta. La base de datos utilizada recoge pacientes desde junio de 2011 hasta el momento de la recogida de datos, febrero de 2020.

En general, puesto que la mayoría de los datos han sido recogidos con fines asistenciales en la base de datos de la Unidad de Neurometabolismo, se realizó una revisión de las historias clínicas de aquellos pacientes que cumplían los requisitos de inclusión en el estudio. No se contactó con los pacientes de ninguna forma ni fue necesario realizarles ningún estudio adicional. El modelo de trabajo fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón (CEICA) tras su evaluación.

4.2. Muestra del estudio

La muestra se ha constituido con 106 pacientes pediátricos con el diagnóstico de *Deficiencia de Vitamina B₁₂*.

4.3. Criterios de inclusión de la muestra

1. Pacientes pediátricos diagnosticados de déficit de vitamina B₁₂ sin límite de edad y que figuren en la base de datos de la Unidad de Neurometabolismo del Hospital Infantil Miguel Servet, la cual es de uso exclusivamente asistencial.

Los Criterios de exclusión de la muestra:

1. Mal cumplimiento del tratamiento durante el seguimiento.
2. No haber podido realizar un seguimiento del paciente por no acudir a revisión clínica tras el diagnóstico o establecer la pauta de tratamiento.

4.4. Variables del estudio

En la tabla 6 se presentan las variables analizadas en el estudio:

Fecha de nacimiento	Fecha del episodio	Sexo	Etnia/Procedencia
Motivo de consulta	Síntoma principal	Diagnóstico final	Diagnóstico secundario
Niveles de vitamina B ₁₂ al inicio (pg/mL)	Niveles de ácido fólico al inicio (ng/mL)	Determinación de ácidos orgánicos en orina al inicio: SÍ/NO	Niveles de tHcy al inicio (μmol/L)
Niveles de hemoglobina al inicio (g/dL)	Determinación de VCM al inicio (fL)	Alteración del cribado neonatal: SÍ/NO	Afectación de otras series hematológicas (neutropenia/plaquetopenia): SÍ/NO
Dieta del paciente	Dieta materna	Patología materna	Niveles de vitamina B ₁₂ materno si determinado (pg/mL)
Ingreso hospitalario SÍ/NO	Alteración de pruebas complementarias realizadas (EEG/Eco-TF)	Tratamiento recibido	Vía de administración elegida
Número de dosis administrada	Niveles de vitamina B ₁₂ tras tratamiento (pg/mL)	Niveles de ácido fólico tras tratamiento (ng/mL)	Niveles de MMAo tras tratamiento si determinada (mmol/L)
Niveles de tHcy tras tratamiento si determinada (μmol/L)	Hallazgos en la exploración física	Evolución/destino del paciente	Alta: SÍ/NO

Tabla 6. Variables del estudio

4.5. Análisis estadístico del estudio

Se diseñó una base de datos en Excel con los pacientes que cumplieran los criterios de inclusión en el estudio. En dicha base de datos, no se recogían aquellos que pudiera identificarlos, por lo que se usó un código numérico cuya relación con cada paciente sólo la conocía el investigador principal.

El análisis de los datos se realizó mediante el paquete estadístico SPSS versión 25. En el análisis univariante se utilizó la frecuencia y porcentaje para las variables cualitativas, y la media y desviación típica para las variables cuantitativas. En el análisis bivariante se utilizó Chi-cuadrado y U de Mann-Whitney. El valor de la p inferior a 0.05 fue considerado estadísticamente significativo.

4.6. Aspectos éticos

1. No ha existido riesgo para el paciente ya que no se ha realizado intervención alguna ni se ha contactado con ellos para el presente estudio.
2. Los pacientes han sido identificados por código numérico en la base de datos realizada para el estudio, garantizándose el anonimato de los mismos.
3. No han existido implicaciones asistenciales. La realización del estudio no ha interferido con las tareas asistenciales del centro, no ha aumentado la lista de espera ni ha supuesto una distribución de los recursos que puede afectar al principio de justicia distributiva.
4. No ha existido compensación económica de los participantes.
5. Los pacientes han sido reclutados desde la base de datos de la Unidad de Neurometabolismo, creada desde hace años con fines asistenciales. Por ello, no ha sido posible recabar el consentimiento de los participantes ya que un gran porcentaje de estos no son controlados en dicha Unidad dada resolución rápida de dicha patología cuando el origen es carencial.

RESULTADOS

5. RESULTADOS

A continuación, se presentan, de manera secuencial y en función de los objetivos planteados, los resultados obtenidos en esta investigación.

5.1. Estudio descriptivo

5.1.1. Características de la muestra

En el momento de este estudio, se disponían de un total de 106 pacientes pediátricos con el diagnóstico de *Deficiencia de Vitamina B₁₂*. De todos ellos, el 62,3% de los pacientes diagnosticados fueron varones, y el 37,7% restante mujeres. En cuanto al lugar de procedencia, el 82,1% de los pacientes habían nacido en España, el 7,5% en Marruecos, el 3,8% en Rumanía, el 2,8% en países de América del Sur, el 1,9% en Argelia y en el 1,9% de la muestra este dato se desconocía.

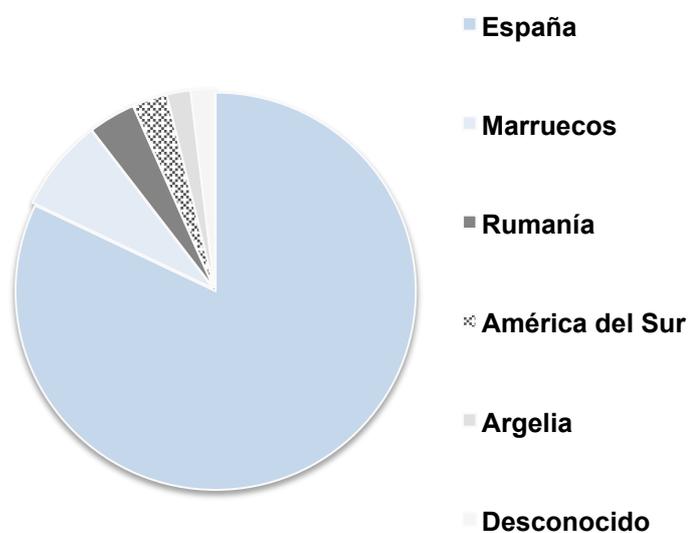


Figura 2. Lugar de procedencia de los pacientes diagnosticados de deficiencia de vitamina B₁₂

5.1.2. Edad al diagnóstico

La edad media de los pacientes controlados en la Unidad de Neurometabolismo del Hospital Infantil Miguel Servet fue de 1,15 años, siendo la edad mínima de 0,03 años y edad máxima 13,94 años. La edad mediana fue de 0,29 años (Rango intercuartílico = 0,51 años).

5.1.3. Alimentación recibida

El 53,3% de los pacientes en el momento del diagnóstico era alimentado con lactancia materna exclusiva, el 15,2% con lactancia mixta y el 6,7% con lactancia artificial. En el momento de iniciar la alimentación complementaria, en el 5,7% de la muestra, los padres afirmaban ofrecerle una alimentación muy variada además de seguir con lactancia materna; sin embargo, un 1,9% afirmaba ofrecerle alimentos muy pobres en vitamina B₁₂.

En la muestra restante y una vez finalizada la lactancia, un 2% recibían una alimentación muy variada y enriquecida en B₁₂ y en un 7,6% de los pacientes los padres reconocían no ofrecer alimentos de origen animal a sus hijos. En el 7,6% restante, se desconocía el tipo de alimentación recibida.

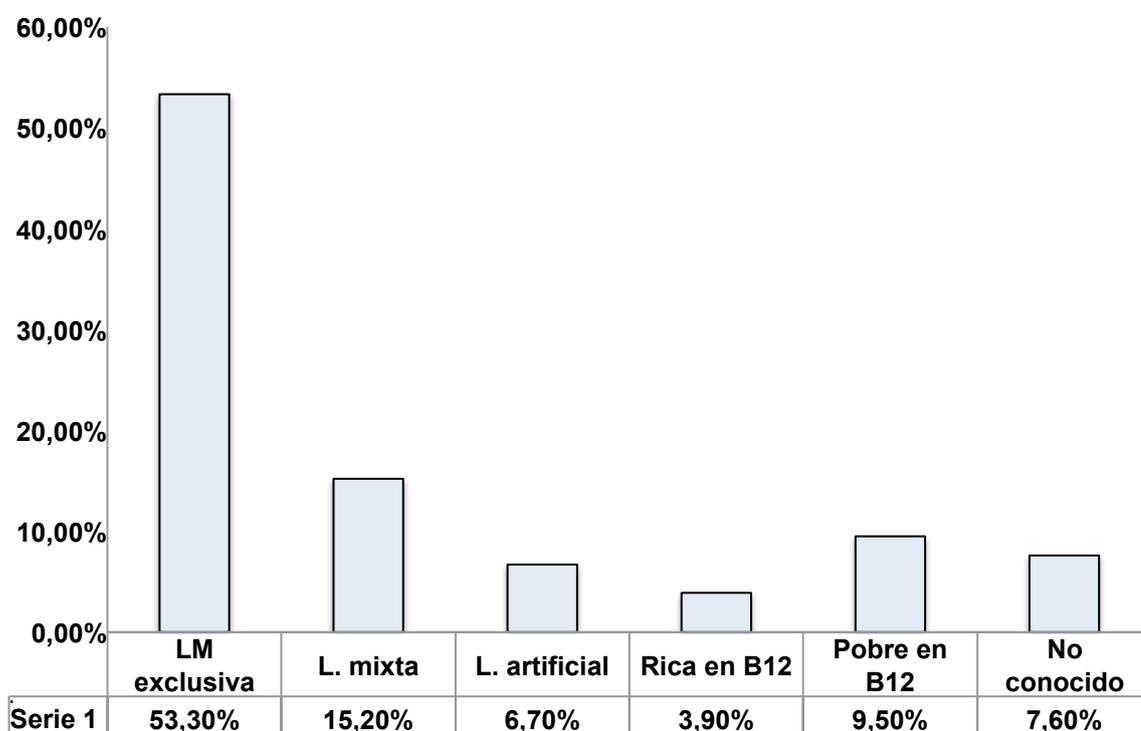


Figura 3. Tipo de alimentación recibida en los pacientes diagnosticados de deficiencia de vitamina B₁₂

5.1.4. Formas clínicas de presentación

El 16% de los pacientes habían consultado en el Servicio de Urgencias del Hospital Infantil Miguel Servet por episodio de apnea/pausa respiratoria, un 8,5% por episodio de atragantamiento relacionado con la toma, y un 14,2% de los mismos por episodios paroxísticos, siendo todos ellos derivados a la Unidad de Neurometabolismo para continuar su seguimiento. En cuanto a los episodios paroxísticos descritos, el 5,7% había presentado un episodio de desconexión del medio asociado a hipotonía, el 3,8% episodio de hipertónia generalizada y el 4,7% restante episodio tónico-clónico de las cuatro extremidades.

El 25,5% de los pacientes había sido derivado a dicha Unidad por alteración del cribado neonatal, permaneciendo el 100% de los mismos asintomáticos en el momento de la primera visita en consulta. Estos presentaban alteración del perfil de acilcarnitinas o aminoácidos relacionados con el metabolismo de la vitamina B₁₂.

El 35,8% restante de la muestra había sido derivado a la Unidad por hipovitaminosis B₁₂ como hallazgo analítico en un estudio realizado ante otras alteraciones relacionadas con la vitamina B₁₂, neurológicas, hematológicas o alteraciones en la alimentación. El 8,5% de estos pacientes presentaba estancamiento ponderal, el 8,5% retraso psicomotor, el 2,8% alteraciones hematológicas (citopenias) en estudios realizados previamente, el 1,9% irritabilidad, el 0,9% astenia, permaneciendo el 13,2% restante asintomático y habiéndose realizado dicha analítica como parte de una revisión rutinaria.

Por la forma clínica de presentación, el 48,1% de los pacientes requirieron ingreso hospitalario al debut. El 50,9% fue derivado directamente a consultas externas de Neurometabolismo para continuar el estudio.

A continuación, en la tabla 7 se muestran las formas de presentación de la deficiencia de vitamina B₁₂ en la cohorte de pacientes estudiados.

Forma de presentación	Frecuencia	Porcentaje
Apnea/Pausa respiratoria	17	16%
Episodio paroxístico	15	14,2%
Atragantamiento	9	8,5%
Cribado neonatal alterado	27	25,5%
Otras patologías relacionadas con B ₁₂	38	35,8%
Total	106	100%

Tabla 7. Formas de presentación de la deficiencia de vitamina B₁₂ en nuestra cohorte de pacientes

5.1.5. Parámetros analíticos al inicio del seguimiento

5.1.5.1. Vitamina B₁₂

El valor medio de vitamina B₁₂ en la primera visita fue de 197,98 pg/mL ($\pm 72,53$ DE), siendo el valor mínimo 67 pg/mL y máximo 379 pg/mL.

5.1.5.2. Ácido fólico

El valor medio de ácido fólico al inicio fue de 17,69 ng/mL ($\pm 5,64$ DE), siendo el valor mínimo 0,18 ng/mL y máximo 25,80 ng/mL.

5.1.5.3. Hemoglobina y VCM

En el 71,4% de la muestra se disponía de un hemograma en la primera visita, con un valor medio de hemoglobina de 12,15 g/dL ($\pm 2,68$ DE) y VCM de 87,52 fL ($\pm 10,23$ DE). En ninguno de los pacientes había signos de anemia megaloblástica al diagnóstico.

5.1.5.4. Homocisteína Plasmática Total (tHcy)

Tan solo en el 30% de los pacientes se había determinado el nivel de tHcy al inicio del seguimiento, con un valor medio de 8,23 μ mol/L ($\pm 2,86$ DE). En el 65,62% de ellos el valor de tHcy era ≥ 6.5 μ mol/L con un valor máximo de 14,49 μ mol/L.

5.1.5.5. Ácidos orgánicos en orina

En el 40,6% de los pacientes en seguimiento se había determinado ácidos orgánicos en orina. El 46,5% de ellos presentaba alteraciones en la excreción de los mismos y el 53,5% presentaba una excreción normal. De los pacientes con excreción alterada, el 85% de ellos presentaba una excreción elevada de ácido metilmalónico, el 5% excreción elevada de ácido 4OH-fenilacético y el 5% restante excreción elevada de ácido 3OH-isovalérico.

5.1.5.6. Otras citopenias

De los pacientes que se disponía de hemograma, se podía objetivar en el 18,4% de ellos neutropenia. El 81,6% restante no presentaba linfopenia ni trombocitopenia al inicio.

5.1.6. Hallazgos en la exploración física

El 84,5% de los pacientes presentaba una exploración física y neurológica normal. El 8,7% presentaba como único hallazgo hipotonía, el 2,9% macrocefalia, el 1,9% tortícolis, el 1% microcefalia y el 1% restante palidez cutánea.

5.1.7. Datos maternos

5.1.7.1. Alimentación materna

En el 91,5% de los casos se desconocía o no se había reflejado en los informes el tipo de dieta materna. De los casos conocidos, un 5,7% de las madres afirmaron seguir una dieta pobre en alimentos ricos en vitamina B₁₂ y un 0,9% totalmente rica en productos con gran contenido en vitamina B₁₂. El 1,9% restante de las madres eran vegetarianas.

5.1.7.2. Patología materna

El 10,4% de las madres presentaban en el momento del diagnóstico déficit de vitamina B₁₂, confirmándose analíticamente en el 72% de ellas encontrándose niveles de vitamina B₁₂ <400 pg/mL. Un 3,8% de las madres presentaban otro tipo de patología no relacionada con la vitamina B₁₂, el 0,9% presentaba un nivel de vitamina B₁₂ normal y el 84,9% restante no se conocía el estado de salud materno o no se había reflejado en la historia clínica del paciente.

5.1.8. Otras pruebas complementarias

En el 26,4% de los pacientes se realizó ecografía transfontanelar, no mostrando ningún hallazgo en el 92,9% de los mismos. El 3,55% presentaba dilatación de ventrículos laterales y el 3,55% presentaba quistes a nivel subependimario.

Además, se realizó electroencefalograma (EEG) en el 20,8% de los casos, mostrando ritmos fisiológicos para las edades de los pacientes en el 95,5% de ellos. Un 0,9% de los pacientes presentaba patrón electroencefalográfico de hipsarritmia, compatible con síndrome de West.

5.1.9. Tratamiento recibido

De los 106 pacientes en seguimiento, tan solo al 0,01% de ellos no se le administró tratamiento. El 99,99% (105 pacientes) recibió tratamiento con vitamina B₁₂. Dado que no hay una única pauta de tratamiento establecida, el 93,3% (98 pacientes) recibió inicialmente tratamiento con una dosis única de 1 mg de hidroxicoBALAMINA intramuscular, mientras que el 6,7% (7 pacientes) recibió pauta alterna de cianocobalamina vía oral durante 2 meses. En el siguiente control, ante la recuperación de los niveles de vitamina B₁₂, solo precisaron una segunda administración de vitamina B₁₂ el 21,9% de los pacientes (23 pacientes) que habían recibido una primera dosis. En este caso, el 56,5% recibió pauta alterna de cianocobalamina vía oral durante dos meses; sin embargo, el 43,5% recibió 1 mg de hidroxicoBALAMINA intramuscular. Finalmente, precisaron una tercera pauta de tratamiento el 13% de los pacientes que habían requerido una segunda dosis, siendo elegida la administración intramuscular de hidroxicoBALAMINA en el 66,67% de los casos. No precisaron mayor número de administraciones hasta la fecha.

Además, durante el seguimiento en consulta, se ofreció información sobre la introducción de alimentos ricos en vitamina B₁₂ en el 100% de los lactantes que iban a iniciar la alimentación complementaria. Igualmente, a las madres lactantes se les recomendó aumentar el consumo de carnes rojas, huevos, leche entera, pescado azul y bivalvos en su dieta habitual. En los casos en los que los niveles maternos estaban deficientes, se indicó suplementación con vitamina B₁₂ por vía oral.

En la figura 4 se muestra el esquema con el número de pacientes que precisaron una, dos y hasta tres pautas de tratamiento para conseguir unos niveles óptimos de vitamina B₁₂.

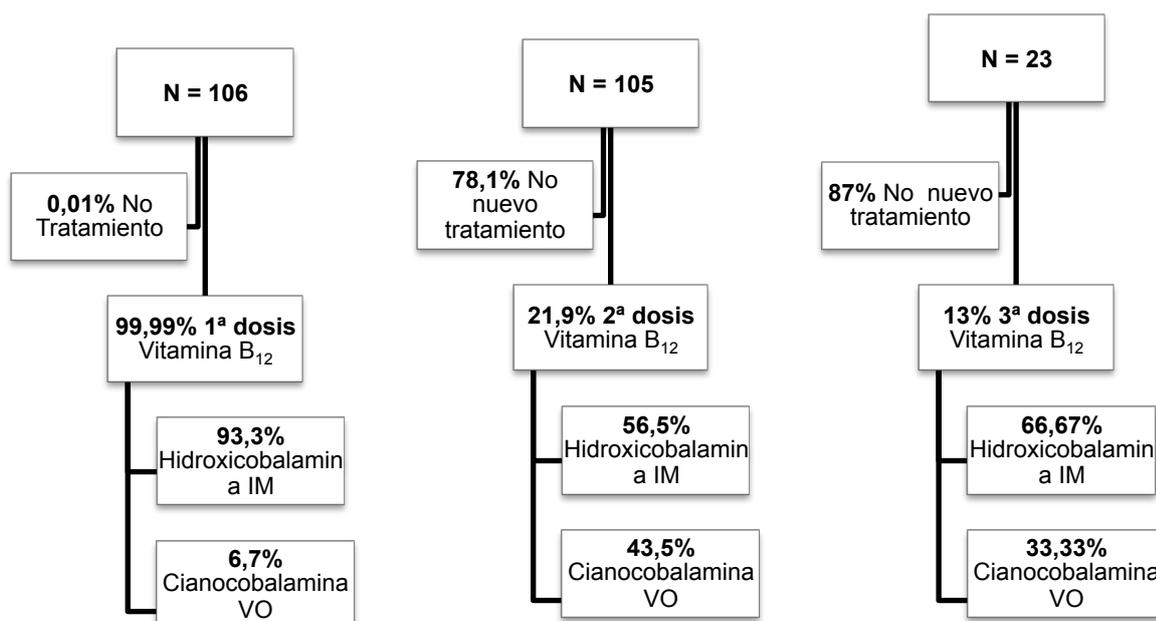


Figura 4. Pauta de tratamiento seguida en nuestra cohorte de pacientes

Por último, en cuanto a la edad mediana de los pacientes y la vía de administración elegida, aquellos que recibieron una primera tanda de tratamiento con cianocobalamina vía oral, la edad mediana fue de 0,81 años (Rango intercuartílico = 12,22). Sin embargo, aquellos pacientes que recibieron dosis inicial de hidroxico-balamina intramuscular la edad mediana fue de 0,29 años (Rango intercuartílico = 0,42 años).

5.1.10. Resultados analíticos tras tratamiento

Se realizaron controles analíticos para determinar los niveles de vitamina B₁₂ tras cada pauta de administración de tratamiento para comprobar la eficacia de este (Tabla 8).

	Al inicio	Tras 1ª pauta tratamiento	Tras 2ª pauta tratamiento	Tras 3ª pauta tratamiento
Vitamina B₁₂ (pg/mL)	197,98 (±72,53 DE)	573,22 (±331,77 DE)	557,05 (±293,03 DE)	518,50 (±388,20 DE)

Tabla 8. Nivel analítico medio de vitamina B₁₂ en las distintas determinaciones realizadas en los pacientes en seguimiento

En cuanto a los niveles de ácido fólico tras tratamiento, la media de las determinaciones fue de 18,82 ng/mL ($\pm 6,54$ DE).

Se realizó control de ácidos orgánicos en orina tras tratamiento con vitamina B₁₂ en el 65% de los pacientes que tenía inicialmente una primera determinación, normalizándose la excreción de los mismos en el 76,92% de los casos. En el 23,08% de los casos seguía objetivándose excreción ligeramente elevada de ácido metilmalónico en orina.

5.1.11. Diagnóstico principal y diagnósticos secundarios

El 75,5% de los pacientes tenía como diagnóstico principal “Disminución transitoria de vitamina B₁₂”, el 10,4% “Disminución de vitamina B₁₂ de origen carencial”, el 0,9% “Hipovitaminosis B₁₂ por deficiencia de cubilina (GEN CUBN)” y en el 13,2% restante no constaba diagnóstico final dado que fueron perdidos durante el seguimiento.

En cuanto a diagnósticos secundarios, el 58,8% de la muestra no tenía ningún diagnóstico además del principal. El 13,2% tenía como segundo diagnóstico “Cribado neonatal normal”, el 3,8% “BRUE” (Episodio breve resuelto inexplicado), el 2,8% “Episodio paroxístico”, el 1,9% “Cribado neonatal alterado: defecto de la Beta Oxidación de ácidos grasos de cadena corta”, el 0,9% “Deficiencia de acil CoA-deshidrogenasa de cadena corta”, el 0,9% “Portador de metilcrotoniglicinuria”, el 0,9% “Cribado neonatal alterado: defecto de la Beta Oxidación de ácidos grasos de cadena media”, el 0,9% “Paciente portador de variante en heterocigosis en el gen ASS1”, el 0,9% “Cribado neonatal ampliado con elevación de metionina sin homocistinuria”, el 0,9% “Deficiencia de carnitín palmitoiltransferasa (CPT I)” y el 0,9% restante “Hipermetioninemia por mutación en MAT1A”. Los pacientes perdidos citados anteriormente (13,2%) no tenían tampoco segundo diagnóstico.

5.1.12. Evolución y destino de los pacientes

Dada la buena respuesta analítica y clínica tras recibir tratamiento, el 72,6% de los pacientes fueron dados de alta de la Unidad. Actualmente, del 27,4% restante de pacientes que continúan en seguimiento, en el 37,96% de los casos, la cita en consulta para control clínico y analítico post-tratamiento ha sido pospuesta por la crisis sanitaria debida a la pandemia por COVID-19.

5.2. Estudio analítico

5.2.1. Niveles de vitamina B₁₂ al inicio

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la relación entre el nivel de vitamina B₁₂ al inicio del seguimiento y el sexo del paciente ($t=0,88$; $p=0,38$). Tampoco se objetivaron diferencias estadísticamente significativas entre el nivel de vitamina B₁₂ al inicio y el lugar de procedencia ($F=0,87$; $p=0,52$), así como tampoco se encontró correlación estadísticamente significativa comparando dichos niveles con la edad de los pacientes al diagnóstico (correlación de Pearson= $0,10$; $p=0,29$).

En cuanto a la alimentación recibida por los pacientes, sí que se encontraron diferencias significativas ($F=2,26$; $p=0,03$) en función del tipo de dieta seguida y el nivel de vitamina B₁₂ al diagnóstico. Los pacientes que recibían lactancia artificial y habían iniciado una alimentación complementaria variada era el grupo que tenía unos niveles de vitamina B₁₂ superiores al resto (307 pg/mL); sin embargo, aquellos pacientes que recibían lactancia materna y habían iniciado la alimentación complementaria, pero pobre en alimentos que contuvieran vitamina B₁₂, fue el grupo con menor niveles vitamina B₁₂ (95,5 pg/mL \pm 4,95 DE). El resto de los grupos pueden observarse en la Tabla 9.

Alimentación	Media	Desviación
LM exclusiva	186,87	61,09
L. artificial	217,43	59,25
L. mixta	248,06	75,30
LM + complementaria variada	194	101,52
LM + complementaria pobre en B₁₂	94,50	4,95
L. artificial + complementaria variada	307	
Rica en B ₁₂	154	
Pobre en B ₁₂	185,63	68,43
Desconocida	190,25	95,01
Total	197,98	72,53

Tabla 9. Niveles medios de vitamina B12 según dieta recibida

Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar dichos niveles con el tipo de alimentación de las madres de las que se disponían datos ($F=0,85$; $p=0,47$). Dada la escasa muestra de la que se disponía dicha información, aparentemente sí que en uno de los dos casos en las que las madres afirmaban seguir una dieta vegetariana estricta (Tabla 10, caso nº 25) presentaba el paciente un déficit marcado de vitamina B₁₂ a pesar de haber iniciado una alimentación complementaria variada.

Nº Caso	Tipo de alimentación materna	Nivel de vitamina B ₁₂ al diagnóstico (pg/mL)	Tipo alimentación del paciente
18	Pobre en B ₁₂	175	L. mixta
23	Vegetariana	235	LM exclusiva
25	Vegetariana	67	LM + complementaria variada
36	Rica en B ₁₂	283	LM exclusiva
52	Pobre en B ₁₂	72	LM exclusiva
53	Pobre en B ₁₂	213	LM exclusiva
54	Pobre en B ₁₂	216	LM exclusiva
74	Pobre en B ₁₂	235	LM exclusiva
78	Pobre en B ₁₂	176	LM exclusiva

Tabla 10. Relación entre tipo de alimentación materna y nivel de vitamina B₁₂ al diagnóstico en 9 pacientes disponibles

En la muestra estudiada, no se hallaron correlaciones estadísticamente significativas en la relación entre el nivel de vitamina B₁₂ y el valor de hemoglobina al diagnóstico (correlación de Pearson=0,12; $p=0,31$) ni con el nivel de VCM (correlación de Pearson=0,06; $p=0,63$).

En cuanto a la relación entre el nivel de vitamina B₁₂ y de homocisteína, sí que se encontró correlación estadísticamente significativa al comparar dichos valores (correlación de Pearson=0,46; $p=0,012$).

No hubo diferencias estadísticamente significativas entre el nivel de vitamina B₁₂ y la gravedad de la patología que presentaron al diagnóstico (F=0,81; p=0,52).

En cuanto hallazgos a nivel de la exploración física, tampoco hubo diferencias significativas a nivel estadístico en función del nivel de B₁₂ al inicio (F=0,88; p=0,49).

Tampoco hubo relación entre el nivel de deficiencia de vitamina B₁₂ y del requerimiento de ingreso hospitalario por este motivo (t=0,29; p=0,78).

En cuanto a la realización de pruebas complementarias, no se encontró diferencias estadísticamente significativas a la hora de solicitar ecografía transfontanelar y el nivel de vitamina B₁₂ al inicio (p=0,68) o a la hora de solicitar electroencefalograma (p=0,81).

5.2.2. Tratamiento con vitamina B₁₂

En cuanto a la comparación de tratamientos y estudiar si existen diferencias sobre la efectividad a la hora de administrar vitamina B₁₂ en forma de hidroxocobalamina intramuscular o cianocobalamina vía oral y el efecto sobre el aumento en mayor o menor medida de los niveles de vitamina B₁₂ con respecto al valor inicial:

1. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la primera tanda de tratamiento en función del método de administración y el posterior aumento de vitamina B₁₂ (t= 0,91; p= 0,37).
2. Tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas en la segunda tanda de tratamiento comparando la vía de administración con los niveles de vitamina B₁₂ en aquellos pacientes que requirieron una segunda dosis de tratamiento (t=0,61; p=0,55).
3. No se pudieron analizar los pacientes que requirieron una tercera dosis de vitamina B₁₂ y la efectividad de dicho tratamiento en función de la vía de administración elegida dada escasez de dicha muestra.

Por otro lado, al comparar la vía de administración elegida para el tratamiento y la edad mediana de la muestra estudiada, no se encontraron diferencias significativas (U de Mann-Whitney 230,50; p=0,16).

Por último, en cuanto a la normalización de excreción de ácidos orgánicos en orina en función de la vía de administración elegida, no hubo diferencias estadísticamente significativas encontradas en la muestra a estudio (Chi cuadrado de Pearson=0,33; p=0,57).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

6. DISCUSIÓN

A partir del objetivo principal planteado en la investigación, se ha tratado de:

Identificar a los pacientes con déficit de vitamina B₁₂ y estudiar si existe relación entre las características de estos y la patología que presentan, así como describir el amplio espectro clínico de los pacientes y poder determinar si existe relación entre los niveles de vitamina B₁₂ y la gravedad del cuadro:

Según los resultados que se han obtenido, podemos confirmar que, aunque el déficit de vitamina B₁₂ no se trata de una patología frecuente en edades pediátricas, la variabilidad clínica de presentación es muy amplia. En la muestra recogida, la mayoría de los pacientes permanecían asintomáticos al diagnóstico (38,7%), y de estos, un porcentaje elevado (25,5%) son pacientes diagnosticados por alteración del cribado neonatal, sobre todo por alteración en el perfil de acilcarnitinas de los marcadores C3, C4, C4DC y C4DC-C5OH. Dado que la vitamina B₁₂ juega un importante papel como coenzima en diversas vías metabólicas, tanto en la metilación de la homocisteína a metionina, como en la conversión de metilmalonil-CoA a succinil-CoA, se ha descrito en diversos estudios la elevación de C3 carnitina (propionilcarnitina) en el cribado neonatal como una manifestación de esta deficiencia^{36,37}. Uno de los ejemplos coincidentes con el estudio es el caso de Campbell CD et al. (2005), en el que se señala como la deficiencia de vitamina B₁₂ provocaba dicha acumulación de C3 y por tanto, alteración del cribado neonatal, en dos recién nacidos asintomáticos con deficiencia de vitamina B₁₂ debido a deficiencia materna³⁸. No se ha encontrado relación con el resto de alteraciones en el perfil de acilcarnitinas y la deficiencia de vitamina B₁₂.

En cuanto al resto de manifestaciones descritas en nuestra cohorte de pacientes, el siguiente más frecuente fue la apnea o pausa respiratoria (16%), seguida de episodio paroxístico (14,2%). Este hallazgo, sería coincidente con los obtenidos en el reciente estudio de Aguirre et al. (2019), en el que describen su experiencia con este tipo de pacientes, y señalan también los síntomas neurológicos graves como forma de debut, entre ellos las apneas de origen central y las convulsiones tónico-clónicas³⁹.

Diversa literatura científica revela de manera reiterada casos de deficiencia de vitamina B₁₂ con sintomatología neurológica como episodios paroxísticos motores y convulsiones. Recientemente en una publicación de Pérez et al. (2020), se presenta un lactante de 1 mes y 20 días con clínica de episodios paroxísticos consistentes en clonias de miembros superiores y mirada fija de escasos segundos de duración donde

en el estudio neurometabólico revela una vitamina B₁₂ de 69 pg/mL y elevación de MMA en orina y tHcy: sintomatología que remite tras tratamiento con vitamina B₁₂ intramuscular⁴⁰. El perfil de este paciente así como la evolución es semejante a la mayoría de los registrados en nuestra base de datos que consultaron por este motivo. Sin embargo, Cortés et al. (2015), describen el caso clínico de un lactante de 15 meses con clínica neurológica, pérdida progresiva de hitos del desarrollo ya conseguidos y, trastornos del movimiento consistentes en temblores y clonias. Dicho paciente no había sido sometido a cribado neonatal por decisión familiar y había sido alimentado hasta la fecha con lactancia materna exclusiva, siendo hijo de madre vegetariana. Se detecta una vitamina B₁₂ de 46 pg/mL y tras prueba de imagen cerebral se objetiva atrofia corticosubcortical generalizada secundaria a esta deficiencia³⁵. Cuando la evolución y severidad de la deficiencia es prolongada así como cuando el diagnóstico se realiza de manera tardía, el pronóstico de estos pacientes suele ser peor³⁴.

Algunos autores señalan la posible relación entre la deficiencia de vitamina B₁₂ y síndrome de West. Erol et al. (2007), revelan el caso de una lactante alimentada con lactancia materna exclusiva y con un desarrollo psicomotor normal. A partir de los 10 meses de edad comienza a presentar sacudidas bruscas de la cabeza, tronco, extremidades superiores e inferiores con un patrón electroencefalográfico de hipsarritmia, siendo diagnosticado de síndrome de West. Tras recibir hormona adrenocorticotrópica (ACTH) sintética mejoran los espasmos, pero presenta un empeoramiento neurológico (EEG con actividad enlentecida de manera generalizada). Clínicamente presenta apatía y no mantiene una sedestación estable. Tras el diagnóstico de deficiencia de vitamina B₁₂, se inicia tratamiento parenteral con cobalamina y sus síntomas se resuelven. El patrón electroencefalográfico posterior se normaliza, y el desarrollo psicomotor es normal a los 20 meses de edad⁴¹. Situación similar a la de una lactante de este estudio que se encontraba en seguimiento porque a los 7 meses de edad presentó episodios paroxísticos sugestivos de síndrome de West, detectándose en el EEG patrón compatible con el mismo. Así mismo, se detectó en el perfil neurometabólico una vitamina B₁₂ de 175 pg/mL con elevación de la excreción de MMA en orina y elevación de tHcy. Preciso dos dosis de hidroxicobalamina intramuscular para normalizar los niveles de vitamina B₁₂ y respondió de manera satisfactoria en cuanto a los espasmos al tratamiento con ACTH sintética, aunque a nivel neurológico tuvo una evolución algo más tórpida que la paciente comentada con anterioridad a pesar del tratamiento con vitamina B₁₂.

Por otra parte, se describe también en la literatura la afectación de parámetros antropométricos y detención de la curva de crecimiento como ocurrió en el 8.5% de nuestros pacientes en los que el diagnóstico se realizó de manera incidental en contexto de estudio analítico por dicho motivo⁴².

En referencia al sexo, la mayoría de los pacientes diagnosticados en nuestro estudio eran varones (62,3%), algo compartido con algunos de los artículos sobre casos clínicos revisados^{43,44,45}.

En cuanto a la alimentación recibida y dado que la dieta vegetariana está siendo adoptada cada vez más por un porcentaje creciente de población, a fin de minimizar los riesgos derivados de este tipo de alimentación parece oportuno considerarlo una alternativa nutricional que se debe preguntar siempre en consulta³⁵. En la muestra estudiada disponíamos de esta información en el 92,4% de los pacientes; sin embargo, recabamos dicho dato en un 8,5% de las madres encuestadas, de las cuales el 1,9% afirmaban seguir una dieta vegetariana. Diversos estudios relacionan el déficit de vitamina B₁₂ en lactantes con niveles bajos de cobalamina transferidos durante la gestación y lactancia por parte de madres con deficiencia de vitamina B₁₂ relacionada con la dieta, sobre todo si reciben lactancia materna exclusiva y prolongada⁴⁶. Por todo ello, es importante conocer el tipo de alimentación de nuestros pacientes con el fin de vigilar la aparición del déficit de cobalamina en hijos de madres vegetarianas.

Analizar las diferentes variables bioquímicas que permitan diagnosticar la deficiencia de vitamina B₁₂:

Respecto a los marcadores biológicos que permiten diagnosticar esta patología, aunque no hay valores universalmente establecidos de vitamina B₁₂ sérica y no hay consenso respecto a los valores de normalidad en niños, nuestra muestra de pacientes fue reclutada por presentar niveles de vitamina B₁₂ inferiores a 400 pg/mL. Tal y como indica la bibliografía revisada, por debajo de dicho nivel se recomienda la determinación de tHcy, lo cual se realizó en el 30% de los pacientes y fue superior a 6,5 µmol/L en el 65,62% de los mismos (valor de corte establecido como fiable como marcador de deficiencia de vitamina B₁₂⁷); igualmente, el valor de MMA, el cual se determinó en orina en el 40,6% de los pacientes, ya que se trata del marcador más específico y sensible de deficiencia de vitamina B₁₂²⁶. En nuestra muestra de pacientes que presentaban una excreción alterada de ácidos orgánicos, el 85% de ellos presentaba una excreción elevada de ácido metilmalónico, algo característico de esta patología.

Comprobar si existen diferencias en el tratamiento según la vía de administración elegida:

Referente al tratamiento, y con el fin de comprobar si existían diferencias en cuanto a la eficacia de este en función de la vía de administración elegida, en la muestra de estudio no se han obtenido diferencias significativas en las múltiples dosis recibidas de tratamiento, lo que conlleva a una similar eficacia de ambos tratamientos en nuestro estudio. Hallazgo compatible con los obtenidos por Wang et al. (2018) en una muestra de 153 pacientes con un seguimiento entre tres y cuatro meses para comparar ambas vías de administración de vitamina B₁₂ (oral versus intramuscular). Estos autores señalan con una evidencia de calidad baja efecto similares en cuanto a la normalización de los niveles séricos de vitamina B₁₂ con la administración del tratamiento por ambas vías. Igualmente destacan el menor coste económico del tratamiento oral⁴⁷. Estos resultados son similares a otro publicado previamente (Vidal-Alaball et al., 2005) sobre el uso de la cobalamina oral, al sugerirla tan eficaz como la vitamina B₁₂ intramuscular para lograr respuestas a nivel hematológico y neurológico de los pacientes en seguimiento además del beneficio de realizar menos visitas a los centros de salud y evitar las molestias de las inyecciones⁴⁸. El estudio de Bolaman et al. (2013) también comparte la efectividad de ambos tratamientos y la ventaja de su mejor tolerabilidad y menor coste económico del tratamiento oral⁴⁹. Sin embargo, los cálculos de coste-efectividad realizados en nuestra Unidad no evidencian esta conclusión, objetivándose un menor precio económico de hidroxocobalamina intramuscular según las dosis requeridas. Igualmente, el tratamiento intramuscular asegura la adherencia terapéutica cuando dicha administración se realiza en un medio hospitalario.

Por tanto, a pesar de que el tratamiento sustitutivo en mayoría de países se realice tradicionalmente mediante administración intramuscular de vitamina B₁₂⁵⁰, parece que el tratamiento oral está ganando cada día más importancia y resultados favorecedores que propician el mayor uso en esta patología.

Respecto a la vía de administración elegida, a pesar de la no significación estadística encontrada en nuestro estudio, sí que en la práctica clínica -en concreto en la Unidad de Neurometabolismo del Hospital Infantil-, se tiende a la administración de hidroxocobalamina intramuscular dada la mayor eficacia subjetiva a corto plazo en comparación con la vía oral (principalmente en lactantes en los que el desarrollo neurológico se encuentra comprometido y pacientes con enfermedades metabólicas). Por tanto, la variable edad parece que influye en la elección de la vía de

administración, aunque la evidencia científica señala una eficacia similar a largo plazo de ambas vías.

Referente al pronóstico, nuestros pacientes en general presentan una buena evolución tras recibir tratamiento (72,6%), mejorando a nivel clínico y analítico. La mayoría de los pacientes que debutan con episodios paroxísticos, apneas y BRUE, no vuelven a repetir dichos episodios tras recibir tratamiento. La rápida recuperación clínica durante los primeros días de tratamiento con alta de la Unidad es un hallazgo coincidente con lo descrito en la literatura publicada en la que se señala la reversibilidad de la apatía, hipotonía, anorexia y movimientos involuntarios de manera muy evidente⁵¹.

7. CONCLUSIONES

En primer lugar, la mayoría de los pacientes de la muestra estudiada presentan un déficit de vitamina B₁₂ sin asociar manifestaciones clínicas. Gran parte de estos pacientes son diagnosticados a través del cribado neonatal. Aquellos que debutan con clínica presentan un amplio abanico de síntomas, abarcando desde episodios paroxísticos, apneas, atragantamientos, fallo de medro o anemia.

En segundo lugar, no existe relación estadísticamente significativa entre la mayoría de las características de estos pacientes y la patología que presentan. No obstante, existe relación estadísticamente significativa respecto a los valores de vitamina B₁₂ y la alimentación recibida así como con los niveles de homocisteína.

En tercer lugar, no se evidencia relación estadísticamente significativa entre el nivel de vitamina B₁₂ y la gravedad del cuadro que presentan. Sin embargo, cuando el diagnóstico se realiza de manera tardía y no se inicia el tratamiento de manera precoz, pueden aparecer daños a largo plazo en estos pacientes.

En cuarto lugar, no existen valores universalmente establecidos de vitamina B₁₂ sérica y no hay consenso respecto a los valores de normalidad en niños. Sin embargo, es recomendable las determinaciones de tHcy y MMA con niveles de vitamina B₁₂ inferiores a 400 pg/mL, ambos parámetros alterados en la muestra de estudio.

En quinto lugar, no existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la vía de administración de tratamiento elegida. El tratamiento con una o dos dosis de hidroxocobalamina por vía intramuscular suele ser suficiente en niños con deficiencia de vitamina B₁₂ de origen nutricional. No obstante, otra alternativa de tratamiento es la vía oral, con eficacia similar a medio y largo plazo.

En sexto lugar, las madres vegetarianas o no vegetarianas, que siguen una dieta pobre de alimentos con contenido elevado de vitamina B₁₂ deben de ser advertidas de los daños severos y, no siempre reversibles, que causa esta deficiencia en los niños alimentados exclusivamente al pecho. El consumo de alimentos ricos en cobalamina o suplementos de micronutrientes pueden ser estrategias eficaces para mejorar el estado materno y del lactante.

En séptimo y último lugar, se sugiere incluir el estudio de vitamina B₁₂ al algoritmo diagnóstico ante cuadros neurológicos, hematológicos y nutricionales de etiología desconocida. No olvidar su determinación en estudios de retraso psicomotor, hipotonía, apneas, episodios paroxísticos y episodios amenazantes para la vida.

LIMITACIONES DEL ESTUDIO Y FORTALEZAS

La limitación fundamental de este trabajo es que, al tratarse de un estudio retrospectivo, los sesgos derivados de la recogida de datos haya podido influir en la calidad de la información al no disponer de la totalidad de variables estudiadas en todos los casos. Además, la muestra relativamente escasa de pacientes reclutados para el estudio invalida determinados análisis, y podría ocasionar factores de confusión que influyesen extrínsecamente en los resultados obtenidos.

Por otra parte, en la elección de la formulación y administración de la vitamina B₁₂ no se ha valorado un estudio comparativo entre ambas posibilidades. La consecución de unos niveles adecuados y de forma rápida de vitamina B₁₂ es prioritario para el neurodesarrollo, por lo que no consideramos desde un punto de vista ético administrar la formulación oral en los lactantes.

Como fortalezas de esta investigación, hay que destacar que los datos recogidos provienen de un Hospital de referencia para toda la comunidad de Aragón y que la muestra podría ser representativa de la población general.

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN FUTURAS

Son necesarios más estudios que establezcan unos niveles universalmente aceptados para el diagnóstico de deficiencia de vitamina B₁₂ en la infancia. Así mismo, dada la amplia variabilidad en el tratamiento, sería conveniente el establecimiento de unas pautas estandarizadas sobre dicha patología en edades pediátricas en cuanto al número de dosis a administrar, forma de vitamina B₁₂ y vía de administración más efectiva.

Por otro lado, dada las graves consecuencias neurológicas a largo plazo ante ausencia de un tratamiento efectivo cuando el déficit se instaura principalmente desde lactante, sería interesante también, establecer líneas de investigación sobre el beneficio de suplementar a las madres durante la gestación y lactancia, y analizar los efectos a largo plazo de dicha intervención.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. National Institute of Mental Health. Datos sobre la vitamina B12 [Internet]. febrero 2016 [citado 20 de junio del 2020]. Disponible en: <https://ods.od.nih.gov/pdf/factsheets/VitaminB12-DatosEnEspañol.pdf>.
2. Oh RC, Brown DL. Vitamin B12 Deficiency. AFP [Internet]. 2003 [citado 26 de julio de 2020];67(5):979-86. Disponible en: <https://www.aafp.org/afp/2003/0301/p979.html>
3. Forrellat M, Gómis I, Gautier du Défaix H. Vitamina B12: metabolismo y aspectos clínicos de su deficiencia. Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia [Internet]. 1999 [citado 16 de junio de 2020];15(3):159-74. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0864-02891999000300001&lng=es&nrm=iso&tlng=es
4. Brito A, Hertrampf E, Olivares M, Gaitán D, Sánchez H, Allen LH, et al. Folatos y vitamina B12 en la salud humana. Revista médica de Chile [Internet]. 2012 [citado 15 de junio de 2020];140(11):1464-75. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0034-98872012001100014&lng=es&nrm=iso&tlng=es
5. Green R, Allen LH, Bjørke-Monsen A-L, Brito A, Guéant J-L, Miller JW, et al. Vitamin B12 deficiency. Nat Rev Dis Primers. 2017;3:17040.
6. Allen LH, Miller JW, de Groot L, Rosenberg IH, Smith AD, Refsum H, et al. Biomarkers of Nutrition for Development (BOND): Vitamin B-12 Review. J Nutr. 2018;148(suppl_4):1995S-2027S.
7. García Jiménez MC. Cuándo sospechar y cómo manejar una deficiencia de vitamina B12 en la infancia. Form Act Pediatr Aten Prim. 2018;11(4):225-30.
8. LeBlanc JG, Milani C, de Giori GS, Sesma F, van Sinderen D, Ventura M. Bacteria as vitamin suppliers to their host: a gut microbiota perspective. Curr Opin Biotechnol. 2013;24(2):160-8.

9. Robert T Means, Jr, MD, MACPKathleen M Fairfield, MD, DrPH. Causes and pathophysiology of vitamin b12 and folato deficiencies - UpToDate [Internet]. [citado 23 de julio de 2020]. Disponible en: https://www.uptodate.com/contents/search?search=Robert%20T%20Means,%20Jr,%20MD,%20MACPKathleen%20M%20Fairfield,%20MD,%20DrPH.%20Causes%20and%20pathophysiology%20of%20vitamin%20b12%20and%20folato%20deficiencies&sp=0&searchType=PLAIN_TEXT&source=USER_INPUT&searchControl=TOP_PULLDOWN&searchOffset=1&autoComplete=false&language=es&max=10&index=&autoCompleteTerm=
10. Specker BL, Black A, Allen L, Morrow F. Vitamin B-12: low milk concentrations are related to low serum concentrations in vegetarian women and to methylmalonic aciduria in their infants. Am J Clin Nutr [Internet]. 1990 [citado 5 de mayo de 2020];52(6):1073-6. Disponible en: <https://academic.oup.com/ajcn/article/52/6/1073/4651205>
11. Ares S, Arena J, Díaz-Gómez NM. La importancia de la nutrición materna durante la lactancia, ¿necesitan las madres lactantes suplementos nutricionales? An Pediatr (Barc) [Internet]. 2016 [citado 27 de mayo de 2020];84(6):347.e1-347.e7. Disponible en: <http://www.analesdepediatria.org/es-la-importancia-nutricion-materna-durante-articulo-S1695403315003057>
12. Jardí C, Aranda N, Bedmar C, Arija V. Composición nutricional de las leches infantiles. Nivel de cumplimiento en su fabricación y adecuación a las necesidades nutricionales. An Pediatr [Internet]. 2015 [citado 3 de junio de 2020];83(6):417-29. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1695403315001009>
13. Miñana V. Vitaminas y oligoelementos. Pediatr Integ [Internet]. 2015 [citado 26 de mayo de 2020];XIX(5):324-36. Disponible en: <https://www.pediatriaintegral.es/publicacion-2015-06/vitaminas-y-oligoelementos/>
14. González H, Visentin S. Micronutrientes y neurodesarrollo: actualización Arch Argent Pediatr. 2016;114:570-5.
15. Incecik F, Hergüner MO, Altunbaşak S, Leblebisatan G. Neurologic findings of nutritional vitamin B12 deficiency in children. Turk J Pediatr. 2010;52(1):17-21.

16. Bravo P, Ibarra J, Paredes M. Compromiso neurológico y hematológico por déficit de vitamina B12 en lactante hijo de madre vegetariana: Caso Clínico. Rev Chil Pediatr [Internet]. 2014 [citado 5 de junio de 2020];85(3):337-43. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0370-41062014000300010&lng=es&nrm=iso&tlng=es
17. Yilmaz S, Serdaroglu G, Tekgul H, Gokben S. Different Neurologic Aspects of Nutritional B12 Deficiency in Infancy. J Child Neurol. 2015;31.
18. Rojas D, Figueras F, Durán S. Ventajas y desventajas nutricionales de ser vegano o vegetariano. Rev chil nutr [Internet]. 2017 [citado 2 de junio de 2020];44(3):218-25. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182017000300218&lng=en&nrm=iso&tlng=en
19. Pérez DV, Hertrampf E, de Hemato-oncología B. Folato y Vitamina B12 en Pediatría: Mirada actual. Rev Pediatr Elect [Internet]. 2005 [citado 16 de junio de 2020];2(2):44-52. Disponible en: <http://www.revistapediatria.cl/volumenes/2005/vol2num2/pdf/folatos.pdf>
20. Chapman LE, Darling AL, Brown JE. Association between metformin and vitamin B12 deficiency in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. Diabetes Metab. 2016;42(5):316-27.
21. Martini L, Pecoraro L, Salvottini C, Piacentini G, Atkinson R, Pietrobelli A. Appropriate and inappropriate vitamin supplementation in children. J Nutrit Scienc [Internet]. ed de 2020 [citado 14 agosto de 2020];9. Disponible en: <https://www.cambridge.org/core/journals/journal-of-nutritional-science/article/appropriate-and-inappropriate-vitamin-supplementation-in-children/19E04279BA5240B7F297B421C13C82E3>
22. Reinoso FL, Rivas I, de Paz R, Hernández F. Diagnóstico y tratamiento de las anemias megaloblásticas. Medicine [Internet]. 2008 [citado 2 de mayo de 2020];10(20):1326-33. Disponible en: <http://www.medicineonline.es/es-diagnostico-tratamiento-anemias-megaloblasticas-articulo-13128616>
23. Moráis A, Lama R. Utilidad de los exámenes bioquímicos en la valoración del estado nutricional. Anal Pediatr Contin. 2009;7:348–352
24. Shipton MJ, Thachil J. Vitamin B12 deficiency - A 21st century perspective. Clin Med (Lond). 2015;15(2):145-50.

25. Rosenberg IH. Effects of Folate and Vitamin B12 on Cognitive Function in Adults and the Elderly: Food and Nutrition Bulletin [Internet]. 2008 [citado 2 de julio de 2020]; Disponible en: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/15648265080292S118>
26. Hannibal L, Lysne V, Bjørke-Monsen A-L, Behringer S, Grünert SC, Spiekerkoetter U, et al. Biomarkers and Algorithms for the Diagnosis of Vitamin B12 Deficiency. Front Mol Biosci [Internet]. 2016 [citado 26 de mayo de 2020];3. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4921487/>
27. Langan RC, Goodbred AJ. Vitamin B12 Deficiency: Recognition and Management. AFP [Internet]. 2017 [citado 26 julio de 2020];96(6):384-9. Disponible en: <https://www.aafp.org/afp/2017/0915/p384.html>
28. Laborda SM, García-Blanco MIS, Moisés VR, Vázquez AB. Valores plasmáticos de homocisteína total en el recién nacido normal y en el pretérmino. Factores condicionantes. Acta Pediatr Esp. 2007; 65(3):118-122.
29. Bjørke AL, Ueland PM. Homocysteine and methylmalonic acid in diagnosis and risk assessment from infancy to adolescence. Am J Clin Nutr. 2003;78(1):7-21.
30. Monsen A-LB, Refsum H, Markestad T, Ueland PM. Cobalamin Status and Its Biochemical Markers Methylmalonic Acid and Homocysteine in Different Age Groups from 4 Days to 19 Years. Clin Chem [Internet]. 2003 [citado 5 de julio de 2020];49(12):2067-75. Disponible en: <https://academic.oup.com/clinchem/article/49/12/2067/5642079>
31. Devalia V, Hamilton MS, Molloy AM, British Committee for Standards in Haematology. Guidelines for the diagnosis and treatment of cobalamin and folate disorders. Br J Haematol. 2014;166(4):496-513.
32. Mariño Suárez JE, Monedero Recuero I, Peláez Laguno C. Deficiencia de vitamina B 12 y tratamiento por vía oral. Una opción tan eficaz como (todavía) poco utilizada. Aten Primaria [Internet]. 2003 [citado 17 de junio de 2020];32(6):382-7. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-atencion-primaria-27-articulo-deficiencia-vitamina-b-12-tratamiento-13052719>
33. Berlin H, Berlin R, Brante G. Oral Treatment of Pernicious Anemia with High Doses of Vitamin B12 Without Intrinsic Factor. Acta Med Scand [Internet]. 1968 [citado 12 de junio de 2020];184(1-6):247-58. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.0954-6820.1968.tb02452.x>

34. Racioppi FA, Villamayor G, Serrano N. Manifestaciones neurológicas del déficit de vitamina B12 en pediatría. Med infant [Internet]. 2017 [citado 13 de junio de 2020];27-30. Disponible en: http://www.medicinainfantil.org.ar/images/stories/volumen/2017/xxiv_1_027.pdf
35. Cortés Hernández M, Gutiérrez Schiaffino G, Ledesma Albarrán JM. Déficit de vitamina B12. Form Act Pediatr Aten Prim. 2015;8(1):10-3.
36. Scolamiero E, Villani GRD, Ingenito L, Pecce R, Albano L, Caterino M, et al. Maternal vitamin B12 deficiency detected in expanded newborn screening. Clin Biochem. 2014;47(18):312-7.
37. Marble M, Copeland S, Khanfar N, Rosenblatt DS. Neonatal vitamin B12 deficiency secondary to maternal subclinical pernicious anemia: identification by expanded newborn screening. J Pediatr. 2008;152(5):731-3.
38. Campbell CD, Ganesh J, Ficicioglu C. Two newborns with nutritional vitamin B12 deficiency: challenges in newborn screening for vitamin B12 deficiency. Haematologic. 2005;90(12 Suppl):ECR45.
39. Aguirre JA, Donato ML, Buscio M, Ceballos V, Armeno M, Aizpurúa L, Arpi L. Compromiso neurológico grave por déficit de vitamina B12 en lactantes hijos de madres veganas y vegetarianas. Arch Argent Pediat [Internet]. 2019 [citado 26 de mayo de 2020];117(4). Disponible en: <https://www.sap.org.ar/docs/publicaciones/archivosarg/2019/v117n4a29.pdf>
40. Pérez N, Casuriaga AL, Giachetto G. Compromiso neurológico por déficit de vitamina B12 en un lactante. Arch Argent Pediat [Internet]. 2020 [citado 6 de julio de 2020];118(6):e536-e539. Disponible en: <https://www.sap.org.ar/docs/publicaciones/archivosarg/2020/v118n6a17.pdf>
41. Erol I, Alehan F, Gümüs A. West syndrome in an infant with vitamin B12 deficiency in the absence of macrocytic anaemia. Dev Med Child Neurol. 2007;49(10):774-6.
42. Díaz A, Ruggeri N, Massaguer J, Vilaseca M, Artuch R, Englert E. Anemia megaloblástica por déficit nutricional. An Pediatr (Barc) [Internet]. 2007 [citado 8 de junio de 2020];66(1):96-7. Disponible en: <http://www.analesdepediatria.org/es-anemia-megaloblastica-por-deficit-nutricional-articulo-13097763>
43. Taskesen M, Yaramis A, Katar S, Gozu A, Gozu Pirinccioglu A, Soker M. Neurological presentations of nutritional vitamin B12 deficiency in 42 breastfed infants in Southeast Turkey. Turk J Med Sci. 2011;41(6):1091-6.

44. Demir N, Koc A, Üstyol L, Peker E, Abuhandan M. Clinical and neurological findings of severe vitamin B12 deficiency in infancy and importance of early diagnosis and treatment. *J Paediatr Child Health*. 2013;49(10):820-4.
45. Goraya JS, Kaur S, Mehra B. Neurology of Nutritional Vitamin B12 Deficiency in Infants: Case Series From India and Literature Review. *J Child Neurol*. 2015;30(13):1831-7.
46. Plaza López de Sabando D. Vegetarianismo y anemia por déficit de vitamina B12. *An Pediatr Contin* [Internet]. 2012 [citado 7 de julio de 2020];10(6):359-65. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-anales-pediatria-continuada-51-articulo-vegetarianismo-anemia-por-deficit-vitamina-S1696281812701117>
47. Wang H, Li L, Qin LL, Song Y, Vidal-Alaball J, Liu TH. Oral vitamin B12 versus intramuscular vitamin B12 for vitamin B12 deficiency. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018;3:CD004655.
48. Vidal-Alaball J, Butler CC, Cannings-John R, Goringe A, Hood K, McCaddon A, et al. Oral vitamin B12 versus intramuscular vitamin B12 for vitamin B12 deficiency. *Cochrane Database Syst Rev*. 2005;(3):CD004655.
49. Bolaman Z, Kadikoylu G, Yukselen V, Yavasoglu I, Barutca S, Senturk T. Oral versus intramuscular cobalamin treatment in megaloblastic anemia: a single-center, prospective, randomized, open-label study. *Clin Ther*. 2003;25(12):3124-34.
50. Araya-Quintanilla F, Helga S, Hernández M, Inostroza Ú, Urzua MJ. Efectividad de la administración oral versus intramuscular de vitamina B12 en pacientes con deficiencia: revisión sistemática. *Revista Chil Nutric*. 2016;43(2):180-87.
51. Chalouhi C, Faesch S, Anthoine-Milhomme M-C, Fulla Y, Dulac O, Chéron G. Neurological consequences of vitamin B12 deficiency and its treatment. *Pediatr Emerg Care*. 2008;24(8):538-41.