

Revisión

Revisión sistemática del efecto de los folatos y otros nutrientes relacionados en la función cognitiva del adulto mayor

C. Castillo Lancellotti¹, J. A. Tur Marí¹ y R. Uauy Dagach²

¹Grup de Recerca en Nutrició Comunitària i Estrès Oxidatiu. Dpt. Biologia Fonamental i Ciències de la Salut. Universitat de les Illes Balears. Palma de Mallorca. España. ²Unidad de Salud Pública y Nutrición. Laboratorio de Epidemiología Molecular. Instituto Nutrición y Tecnología en alimentos. Universidad de Chile. Santiago de Chile.

Resumen

Antecedentes: El folato junto a otras vitaminas del complejo B cumplen importantes funciones en la modulación de la expresión génica y síntesis del ADN, siendo necesarios para la detoxificación de la homocisteína y la síntesis de neurotransmisores imprescindibles para el mantenimiento de la función cognitiva.

Objetivo: Revisar sistemáticamente la evidencia científica sobre beneficios y/o riesgos de los folatos y nutrientes relacionados en la función cognitiva del adulto mayor.

Material y método: “Revisión sistemática en Medline, vía Pubmed”, y en referencias de artículos seleccionados entre los años 2005-2011, considerando específicamente nivel de folatos séricos e intraeritrocitarios, ingesta de folatos y función cognitiva en el adulto mayor.

Resultados: Se encontraron doce estudios transversales, seis estudios de cohorte, y seis estudios clínicos randomizados a doble ciego que cumplieron con los criterios pre-establecidos.

Conclusión: Esta revisión no permite concluir que la suplementación de ácido fólico tenga un efecto positivo sobre la función cognitiva en el adulto mayor. Considerando que bajos niveles séricos de folatos podrían relacionarse con un mayor riesgo de deterioro cognitivo y que altos niveles asociados a un bajo nivel de vitamina B₁₂ sérica favorecería un mayor deterioro, se sugiere como medida precautoria revisar los niveles establecidos para fortificar alimentos con ácido fólico para limitar riesgos y maximizar beneficios.

(Nutr Hosp. 2011;27:90-102)

DOI:10.3305/nh.2012.27.1.5432

Palabras clave: Ácido fólico. Cognición. Ejecución cognitiva. Revisión sistemática.

EFFECT OF FOLATE AND RELATED NUTRIENTS ON COGNITIVE FUNCTION IN OLDER PEOPLE; SYSTEMATIC REVIEW

Abstract

Background: Folate and other B complex vitamins play important roles in the synthesis of DNA, gene expression, homocysteine detoxification and synthesis of neurotransmitters necessary for the maintenance of cognitive function.

Aim: Systematic literature review of benefit and/ risks of folate and related nutrients in cognitive function in older adults.

Material and methods: “Medline via Pubmed systematic review” of selected articles from years 2010 and May 2011 and references of the selected articles looking specifically at serum and erythrocyte folate levels, and folate intake and cognitive function in older adults.

Results: Twelve cross-sectional studies, six cohort studies and six randomized double-blind clinical studies that met pre-established criteria were selected for analysis.

Conclusions: This review doesn't support a benefit from folic acid supplementation on cognitive function in the elderly. Whereas low folate serum levels may be related to increased risk of cognitive impairment and high levels associated with low levels of vitamin B₁₂ can contribute a further deterioration, it is suggested as precautionary measure to re-examine the present level of food fortification with folic acid to maximize benefits and limit potential risks.

(Nutr Hosp. 2012;27:90-102)

DOI:10.3305/nh.2012.27.1.5432

Key words: Folic acid. Cognition. Executive function. Systematic review.

Correspondencia: Cecilia Castillo Lancellotti.
Clínica Avansalud.
Avda. Salvador, 100.
7500995 Providencia. Santiago de Chile.
E-mail: dracastillo@gmail.com

Recibido: 22-VI-2011.
1.ª Revisión: 29-VII-2011.
Aceptado: 29-VII-2011.

Abreviaturas

- ADN: Ácido desoxiribonucleico.
 AF: Ácido fólico.
 AMM: Ácido metilmalónico.
 DE: Desviación estándar.
 GR: Glóbulo rojo.
 DHFR: Dihidrofolato reductasa.
 MMSE: Mini examen del estado mental.
 MTHFR: Metiltetrahidrofolato reductasa.
 NHANES: Encuesta Nacional de Salud de los Estados Unidos.
 SAH: S-adenosil-homocisteína.
 SAM: S-adenosil-metionina.
 3 MMSE: Mini examen del estado mental modificado.
 5 MTHF: 5-metil-tetrahidrofolato.
 5,10-metilenTHF: 5,10-metilen-tetrahidrofolato.

Introducción

Numerosos estudios describen la importancia de la nutrición y la alimentación, especialmente de algunos nutrientes como vitaminas, elementos trazas y ciertos ácidos grasos, en la longevidad y calidad de vida de los adultos mayores, así como también, el

efecto que sus deficiencias puedan tener sobre la función cognitiva¹⁻³.

La función bioquímica del folato es mediar la transferencia de una unidad de carbono para la biosíntesis de nucleótidos, el desarrollo del ciclo de la metionina y de reacciones biológicas de metilación. Participa en la conversión bioquímica de la homocisteína a metionina y la posterior síntesis S-adenosil-metionina (SAM). La entrega de metilos por parte de SAM conduce a la formación de S-adenosil-homocisteína (SAH) y de homocisteína cuando pierde su grupo adenosilo. La homocisteína participa nuevamente en un nuevo ciclo de síntesis de metionina o bien, es metabolizada a través de la síntesis de cisteína^{4,5}. Dentro de ellos, el folato cumple importantes funciones en la síntesis de ácido desoxiribonucleico (ADN) que codifica todas las proteínas, y en el mantenimiento de la función cognitiva en relación con la síntesis de neurotransmisores⁴.

El ciclo metabólico del folato se relaciona con otras vitaminas del complejo B como son las vitaminas B₂ y B₆ y en forma especial con la vitamina B₁₂. Esta actúa sobre la enzima metionina-sintetasa que remetilata la homocisteína formando metionina, usando el metilo entregado por 5-metil-tetra-hidrofolato (5-MTHF) e interviniendo además, en la isomerización de L-metil-malonil-coenzimaA a succinil-coenzimaA (fig. 1).

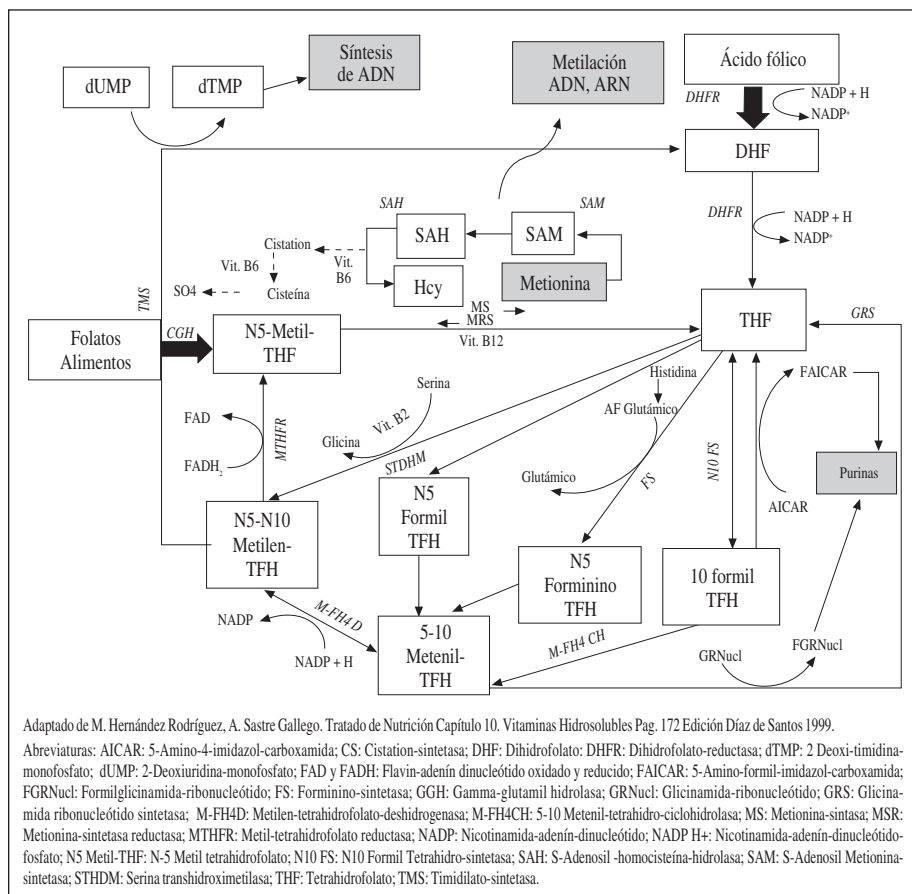


Fig. 1.—Metabolismo del folato.

La deficiencia de folatos, así como también de vitamina B₁₂, se traduce en una reducción de SAM y en un aumento de la homocisteína plasmática, que contribuye al deterioro cognitivo por su efecto oxidante sobre proteínas funcionales y estructurales de neuronas y endotelio⁵, así como también participa en la inhibición de las reacciones dependientes de la metilación que incluye la síntesis de neurotransmisores⁶. El déficit de folato produce una anemia morfológicamente semejante a la anemia por carencia de vitamina B₁₂. Cuando ambas deficiencias coexisten, el aporte de folatos puede mejorar la anemia megaloblástica enmascarando el déficit de vitamina B₁₂ y el desarrollo de una neuropatía secundaria⁴. El ácido fólico, la forma sintética de los folatos, fue desarrollada en el año 1945 siendo utilizada ampliamente a partir de esa fecha en el tratamiento de la anemia perniciosa. La suplementación fue seguida por un aumento en las complicaciones neurológicas en los pacientes, que pudieron posteriormente ser revertidas cuando la vitamina B₁₂ fue aislada e incorporada en el tratamiento⁷.

El ácido fólico se ha utilizado en la fortificación de harina de trigo en numerosos países con el objetivo de disminuir la incidencia de algunas malformaciones congénitas del recién nacido^{8,9}. Esta medida ha sido evaluada como exitosa y costo efectiva en la reducción específica de las malformaciones del tubo neural¹⁰. Su implementación ha determinado un aumento en los niveles de folatos séricos no sólo de la embarazada, sino también, de toda la población intervenida^{11,12}. Numerosos estudios sugieren que el incremento en los niveles de folatos séricos está asociado a mayores riesgos en salud, especialmente del sistema nervioso en los adultos mayores. Esto establece la necesidad de evaluar cuidadosamente quienes se benefician y quienes se podrían perjudicar con esta intervención.

Se ha descrito que un bajo nivel de folato sérico se asociaría a una menor capacidad cognitiva como fallas en la memoria, disminución de la orientación, de la abstracción y de la capacidad para resolver problemas, favoreciendo una mayor velocidad de deterioro de la función cognitiva, específicamente cuando estos altos niveles se asocian a un bajo nivel de vitamina B₁₂¹³⁻¹⁵. El aporte excesivo de folato sintético sobrepasaría la capacidad metabólica de la enzima dihidro-folato-reductasa (DHFR) para transformar el ácido fólico en 5-MTHF, determinando la presencia de ácido fólico libre en la circulación sanguínea¹⁶. Por otra parte, una alta ingesta de folato, especialmente como folato sintético (ácido fólico) podría tener otras consecuencias desfavorables, promoviendo el desarrollo de tumores¹⁷.

Considerando que en Chile se estableció la fortificación obligatoria de harina de trigo con ácido fólico desde el año 2000, se ha desarrollado la presente revisión con el fin de identificar los beneficios y riesgos descritos en relación a la ingesta de folato y nutrientes

relacionados en la función cognitiva, considerando la documentación existente de un aumento en la prevalencia de niveles elevados de folato sanguíneo observado en Chile^{8,11,12} y en otros países¹⁸⁻¹⁹.

Método

Se efectuó una revisión sistemática de la literatura a través de la búsqueda electrónica de revistas científicas en idioma inglés y español entre enero del año 2005 y abril de 2011 provenientes de la base de datos Medline, vía Pubmed. Los descriptores de ciencias de la salud (Medical Subject Headings) utilizados para la búsqueda fueron cognición y ejecución cognitiva en adultos, utilizando la categoría mayor de 45 años como límite inferior de edad con el fin de incluir el mayor número de estudios. Estos descriptores fueron combinados con el descriptor ácido fólico y con la palabra folato. Se encontraron 563 artículos potenciales de ser considerados en la revisión que fueron reducidos a 96 artículos después de revisar los títulos y leer los resúmenes correspondientes. De éstos, se seleccionaron aquellos que describían y analizaban la relación entre ingesta de folato dietario, folato total (folato contenido en los alimentos y suplementado), nivel de folato sérico e intraeritrocitario con la función cognitiva medida según diferentes pruebas de evaluación (tablas I-III). También fueron seleccionados los estudios que, además de folato, evaluaban el nivel sérico y de ingesta de las vitaminas del complejo B que participan en el ciclo del folato (vitaminas B₂, B₆ y B₁₂). Los estudios cuyo objetivo era evaluar exclusivamente demencias y/o enfermedad de Alzheimer o evaluaban la suplementación con otras vitaminas diferentes a las mencionadas anteriormente fueron excluidos. Considerando que un descenso en el nivel de folato sérico puede predecir el deterioro cognitivo durante un tiempo de observación superior a dos años, se seleccionaron los estudios con seguimientos superiores a este período²⁰. En los estudios randomizados se incluyeron todos los ensayos con asignación al azar a doble ciego y controlados con placebo que comparaban la ejecución cognitiva resultante de la suplementación con ácido fólico, con o sin suplementación de las vitaminas B₂, B₆ y B₁₂ y los que incorporaban el nivel de homocisteína en el análisis. Dado que el nivel de folatos séricos se estabiliza tras un tiempo de suplementación superior a tres meses¹⁶, se excluyeron los estudios randomizados con un tiempo de seguimiento menor a este período. Las referencias asociadas a los artículos considerados en este estudio fueron revisadas posteriormente de forma manual para seleccionar e incluir otras publicaciones relevantes que no aparecieran en la búsqueda inicial y que cumplieran con los criterios de selección establecidos (fig. 2). En total se seleccionaron doce estudios transversales, seis estudios de cohorte y seis estudios clínicos randomizados a doble ciego (tablas I-III).

Tabla I
Folato y función cognitiva. Estudios transversales

Autor [#] (Ref)	Año País	Número Sujetos	Edad (años)	Folatos estudiados	Nivel de folatos	Pruebas de evaluación cognitiva
Kado ²²	2005 EEUU	499	70-79	Folato sérico ng/ml	6,62 ± 5,59	Habilidad del Lenguaje Memoria de largo plazo Copia de figuras geométricas Reconocimiento largo plazo Semejanza de Wechsler Adaptada
Ramos ²³	2005 EEUU	1.789	≥ 60	Glóbulo Rojo ng/ml	488 (50-900)	3 MSE [‡] Recuerdo Diferido Nombrar Objetos Asociación de Imágenes Pensamiento Conceptual y Verbal Capacidad de Atención Verbal Reconocimiento de Patrones
Tettamanti ²¹	2006 Italia	471	87,4 Promedio	Folato sérico ng/ml	4,8 ± 2,3	MMSE ^{††} AIVD [‡] SBI-bADL ^{‡‡}
Feng ¹³	Singapur 2006	451	≥ 55	Folato sérico (nmol/L)	24,9 ± 12,4	Retención de dígitos Capacidad de memoria de trabajo visual espacial RAVLT ^{‡‡} Reproducción visual Diseño y Fluidez verbal categorizada Dígitos y símbolos Prueba de Trazado Diseño de habilidad y construcción visual
Morris ²⁷	EEUU 2007	1.459	> 70	Folato sérico nmol/L	39 ± 0,7* 34 ± 1,4**	Codificación de dígitos y símbolos
De Lau ¹⁴	Holanda 2007	1.033	60-90	Folato sérico nmol/L	14,2 ± 8,6	Función cognitiva global [°] Velocidad sicomotora ^{°°} Función de memoria ^{°°°}
Clarke ²⁴	Inglaterra 2008	2.403	> 65	Folato sérico nmol/L	21,8 ± 21,3	MMSE ^{††}
Vidal ²⁵	Francia 2008	3.914	> 65	Folato sérico ng/ml	8 ± 3,2	MMSE ^{††} Isaacs Prueba de Trazado Prueba de retención visual de Benton Prueba de memoria de 5 palabras
Lee ²⁶	Malasia 2009	232	68 Promedio	Folato sérico nmol/L	13,7 ± 8,8 Hombres 15,2 ± 9 Mujeres	Cuestionario de evaluación cognitiva del anciano
Selhub ¹⁵	EEUU 2009	1.302	> 60	Folato sérico	59 (Percentil 80)	Prueba de dígitos y símbolos [*]
Miller ³¹	EEUU	1.535	> 60	Folato sérico (nmol/L)	45,3 [‡]	3 MSE [‡] (31)
Morris ³⁰	EEUU 2010	1.858	70	5Metil-THF (nmol/L)	42; 40; 37 ^{°°} 41; 41; 42 ^{°°°}	Prueba de dígitos y símbolos [*] Acido Fólico [°]

[#]Primer autor; [‡]3 MSE = Mini-Examen del Estado Mental Modificado; ^{††}Mini-Examen del Estado Mental; [°]Test de Aprendizaje Auditivo Verbal de Rey; [‡]Actividades instrumentales de la vida diaria; ^{‡‡}Entrevista Básica de comportamiento espontáneo de actividades de la vida diaria; [°]Puntaje compuesto por Pruebas de Stroop en papel y lápiz, sustitución de dígitos, recuerdo inmediato y diferido de 15 palabras en la Prueba Verbal de Aprendizaje; ^{°°}Puntaje compuesto por Prueba de Stroop, Pruebas en papel y lápiz y Prueba de sustitución de dígitos; ^{°°°}Compuesto por 3 ensayos de recordatorio y uno de recordatorio diferido de 15 palabras; ^{*}Prueba derivada de la Escala Wechsler de Inteligencia para Adultos (WAIS); [°]Definido como nivel elevado de folatos; ^{°°}Valores promedios en sujetos con anemia, macrocitosis y Prueba de Sustitución de dígitos < 30; ^{°°°}Valores promedios en sujeto sin anemia, macrocitosis y Prueba de Sustitución de dígitos > 30; [°]Ácido fólico: Detectable o no detectable.

*Asociado a un nivel sérico normal de vitamina B12; **Asociado a un nivel sérico bajo de vitamina B12 < 148 pmol/L o de ácido metilmalónico > 210 nmol/L.

Tabla II
Folato y función cognitiva. Estudios de cohorte

Autor [#] (Ref)	Año Lugar	Cohorte (n)	Edad (años)	Seguimiento (años)	Rango folato	Rango H-C $\mu\text{mol/L}$	Rango Vit. B ₁₂ pg/ml	Pruebas de evaluación cognitiva
Kado ²²	2005 EEUU	499	70-79	7	Plasmático (ng/ml) 6,62 ($\pm 5,59$)	11,3 ($\pm 3,9$)	440,6 ($\pm 358,3$)	Habilidad Lenguaje Memoria de largo plazo Copia de figuras geométricas Reconocimiento a largo plazo Prueba de semejanza ^o
Morris ³⁴	2005 EEUU	3.718	>65	6	Totales ($\mu\text{g/día}$) 63-1719			EBMT* MMSE ^{††} TSD**
Mooijaart ³²	2005 Holanda	599	85	5	Sérico (nmol/L) 7,3-18,9	11,9-14,3	220-353	MMSE ^{††} Prueba de Stroop LCDT ^o Recuerdo de 12 Palabras
Tucker ³³	2005 EEUU	321	67 ± 7	3	Plasmático (nmol/L) 26 \pm 12 Total ($\mu\text{g/día}$) 440 \pm 202	11 \pm 5	335 \pm 136 Total ($\mu\text{g/día}$) 9,57 \pm 5,73	MMSE ^{††} Secuencia de dígitos inversa ^{oo} CERAD ^{oo}
Kang ³⁶	2006 EEUU	391	74	4	Sérico (ng/mL) 9,9 [‡]		449 [‡]	EETC*** Boston ^{oo} Recuerdo diferido Fluidez verbal ^o Recuerdo diferido EETC*** SDI ^{ooo}
Haan ³⁵	2007 EEUU	1.779	60-101	4,5	GR ng/ml 504,69 $\pm 159,89$ (50-900)	10,78 $\pm 6,46$ (4-129,2)	452,59 $\pm 203,49$ (22-100)	3 MSE [†]

[#]Primer autor; H-C = Homocisteína; GR = Glóbulo rojo.

*EBMT = Prueba de memoria inmediata y de recuerdo; **TSD = Test de Codificación de Símbolos y Dígitos; ^oLCDT Letter digit coding test = Prueba de codificación de dígitos; [†]3 MSE = Mini-Examen del Estado Mental Modificado; ^{††}MMSE = Mini-Examen del Estado Mental; ***Entrevista Telefónica del Estado Cognitivo; ^{ooo}SDI Secuencia de dígitos inversa; ^oFluidez verbal nombrando animales; ^oPrueba de semejanza de la Escala de Wechsler; ^{oo}Secuencia de dígitos inversa de la Escala de Wechsler; ^{oo}Prueba de listado de palabras del Consorcio para Establecer un Registro para la Enfermedad de Alzheimer; [‡]Valores promedios.

*Asociado a un nivel sérico normal de vitamina B12; **Asociado a un nivel sérico bajo de vitamina B12 < 148 pmol/L o de ácido metilmalónico > 210 nmol/L.

Resultados

Estudios transversales

Las relaciones descritas en los estudios seleccionados en relación a folato y función cognitiva muestran la existencia de diferentes asociaciones. En algunos estudios, los resultados muestran un mayor riesgo de deterioro cognitivo cuando los sujetos presentan bajos niveles de folato sérico^{13-14,21-26} o cuando existe un alto nivel de folatos junto a bajos niveles de vitamina B₁₂^{16,27-30} o bien no se describe una asociación significativa entre folato y diferentes niveles de vitamina B₁₂³¹.

Un estudio en sujetos franceses sanos mayores de 65 años, muestra la presencia de un mayor riesgo de deterioro cognitivo cuando éstos presentaban un bajo nivel de folato sérico (hombres < 5,5 ng/ml; mujeres < 6,1 ng/ml) y un alto nivel de homocisteína (hombre > 18,2

$\mu\text{mol/L}$ y mujeres > 16 $\mu\text{mol/L}$), observándose que éstos obtenían los menores puntajes en las cinco pruebas de evaluación cognitiva utilizadas²⁵. En este estudio no se describe una asociación entre ejecución cognitiva y vitamina B₁₂.

Feng et al.¹³ describe en una población de adultos mayores chinos de Singapur, la existencia de una asociación independiente y diferente tanto para folatos como para homocisteína en algunas de las pruebas de ejecución del área cognitiva. En este estudio, los folatos parecen estar asociados específicamente con la memoria episódica y la habilidad en el lenguaje; en cambio, la homocisteína lo hace con el área de habilidad constructiva y con la velocidad de procesamiento de la información. Al igual que lo descrito por Vidal et al.²⁵ en una población francesa, en este estudio no se observa una asociación significativa entre el nivel sérico de vitamina B₁₂ con las diferentes pruebas de

Tabla III
Folato y función cognitiva. Estudios clínicos randomizados

Autor País Año/Ref	Vitaminas Dosis mg/día				Tiempo prueba meses	Tipo población (edad)	Participantes n	Nivel folatos	Pruebas de evaluación cognitiva
	A.F mg	B ₆ mg	B ₁₂ µg	B ₂ mg					
Stott Escocia 2005 ⁴²	2,5	25	500	25	3	EVI* (> 65 años)	185 Plac = 24 AF/B12 = 23 B2 = 23 B6 = 23 AF/B12 + B6 = 23	Folato GR ng/ml 269 ± 87 285 ± 125	LDCT** Entrevista telefónica del estado cognitivo
Lewerin Suecia 2005 ⁴³	0,8	3	500		4	Sanos (76 años)	Plac. = 69 AF + B6 + B12 = 126	Folato sérico nmol/L 16,4 ± 5,1 15,6 ± 6,1	Secuencia de dígitos progresiva e inversa Identificación formas Reproducción Visual de Sinónimos Diseño de bloques Digitación de Símbolos Thustone Clasificación de figuras
Eussen Holanda 2006 ³⁹	0,4		1.000		6	Sanos o DCM y Déficit de Vit. B12 > 70 años	162 Vit B12 = 54 AF + B12 = 51 Plac = 57	Folato GR ng/ml 578 ± 172 591 ± 203 680 ± 280	Construcción Figura de Rey Secuencia de dígitos progresiva Planificación Motora 2 y Golpeteo de dedos para presionar un botón. Recuento 15 palabras inmediatas Recuento de 15 palabras en reversa Reconocimiento de palabras Figura Compleja de Rey 1 y 2 Secuencias de dígitos inversa Similitud de Wais Raven Fluidez Palabras (animales) Fluidez Palabra, letras, N° y sustantivos
Durga Holanda 2007 ³⁸	0,8				36	Sanos Cognición normal (50-70 años)	818 AF = 405 Pl = 413	Folato Sérico nmol/L 12 (9-15) 12 (10-15)	Aprendizaje de palabras Desplazamiento conceptual Prueba de Stroop Fluidez verbal LCDT**
McMahon Nueva Zelanda 2006 ⁴⁰	1	10		0,5	24	Cognición normal	276 Suplementado con Vitaminas = 127 P = 126	Folato Plasmático ng/ml 10 ± 5 10 ± 5	MMSE†† Prueba de Wechsler Test Fluidez Verbal Test Auditivo Verbal de Rey (I-IV) Test Auditivo Verbal de Rey (VII) Matrices Progresivas de Raven Asociación Oral Palabras Parte B de la batería neuropsiquiátrica de Reitan
Ford Australia 2010 ⁴¹	2	25		0,4	24	Cognición normal Hombres Hipertensos	299 Suplementados con Vitaminas	Folato GR nmol/L 647	Aprendizaje verbal de California MMSE†† Cancelación de dígitos Dibujo del reloj Entrevista telefónica del Estado Cognitivo ADAS‡

*Primer autor; †Niveles al inicio del estudio; Supl. = Sujetos que recibieron suplementos de vitaminas; A.F. = Ácido Fólico; Plac. = Placebo; GR = Glóbulo Rojo.
DCM = Déficit cognitivo moderado; *EVI = Enfermedad Vascul ar Isquémica.

**LCDT = Letter digit coding Test (Prueba de sustitución de dígitos por letras).

‡ADAS = Escala de la sección cognitiva para Enfermedad de Alzheimer.

††MMSE = Mini-Examen del Estado Mental.

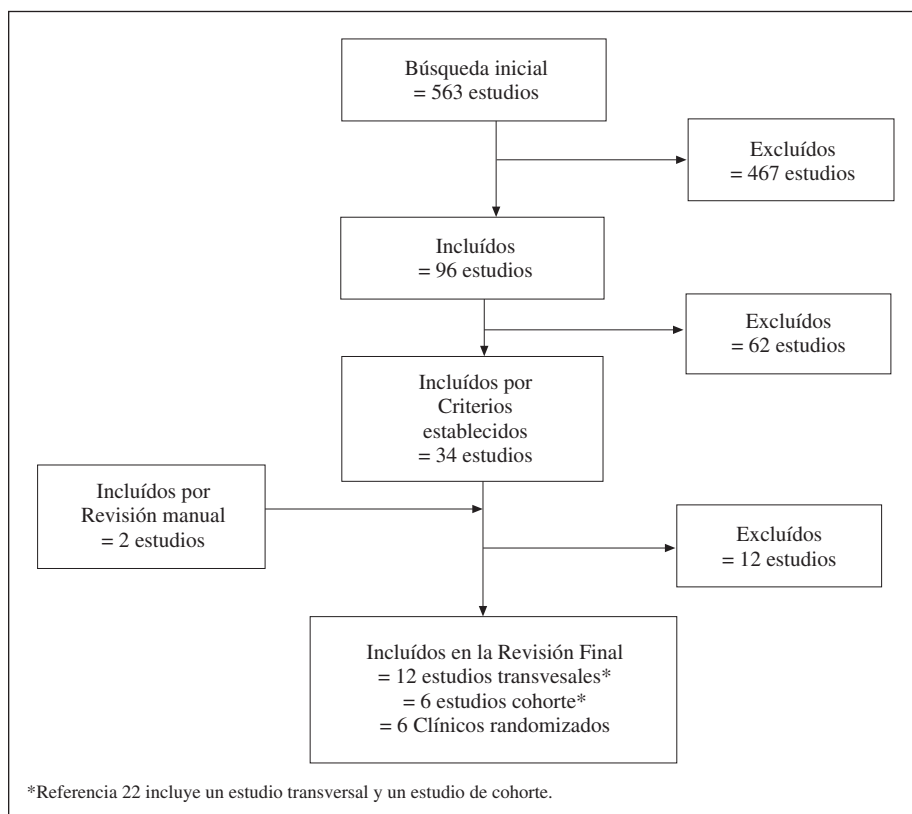


Fig. 2.—Flujograma de los artículos incluidos y excluidos en la revisión sistemática.

evaluación cognitiva, sugiriendo que su rol podría ser menos importante que el folato y la homocisteína en el mantenimiento de estas funciones. Otro estudio desarrollado en una población asiática con baja ingesta de folatos muestra que los factores con mayor significación estadística asociados al deterioro cognitivo son la edad, el consumo de tabaco y la baja concentración de folato séricos ($P = 0,000$; $0,0005$ y $0,0009$ respectivamente)²⁶.

En Holanda, otro estudio en una población con un promedio de folatos séricos de $14,2 \pm 8,6$ nmol/L describe una mejoría significativa en la función cognitiva global, en la velocidad psicomotora y en la memoria cuando el nivel de folato plasmático aumenta, resultados que no se modifican cuando el nivel de homocisteína se incluye en el análisis¹⁴. Este estudio incorpora, además, una evaluación cerebral a través de resonancia magnética y describe una asociación inversa entre folatos plasmáticos y la presencia de lesiones severas de la sustancia blanca cerebral, un tipo de lesión especialmente presente en sujetos hipertensos o que han sufrido un ictus y cuyos mecanismos fisiopatológicos no están suficientemente aclarados³². Como este tipo de lesión se considera un marcador de enfermedad isquémica cerebral, la asociación entre un bajo nivel de folatos y deterioro cognitivo podría ser explicada más bien por la falla de algún mecanismo vascular que por un proceso neurodegenerativo¹⁴.

En Estados Unidos, un estudio desarrollado con posterioridad a la fortificación de harina con ácido fólico

en una población latina que utilizó siete instrumentos para evaluar la función cognitiva en forma global y por subdominios específicos, muestra que el nivel de folato en el glóbulo rojo está directamente asociado con la cognición, especialmente con la ejecución del Mini-Examen del Estado Mental Modificado (3MMS) que evalúa memoria, atención y lenguaje y cuya escala va de 0 a 100. El riesgo relativo para una menor función cognitiva evaluada por 3MMS (puntaje ≤ 78) disminuye en forma significativa con un aumento en la concentración de folatos ($OR = 0,51$; $IC\ 95\% 0,32-0,83$ $P = 0,006$) tras ajustar el modelo por nivel de homocisteína y por algunas variables demográficas. Cuando el riesgo de deterioro cognitivo se evalúa considerando nivel de homocisteína y el análisis se controla por nivel de folatos intraeritrocitarios se observa que la asociación no alcanza a ser significativa²³.

Clarke R. et al.²⁴ estudia en población inglesa la relación entre folatos séricos, el nivel de vitamina B_{12} y la existencia de una falla cognitiva usando el Mini Examen del Estado Mental (MMS) (puntaje < 25 sobre 30), no encontrando una asociación significativa con altos niveles de folatos séricos (> 30 y 60 nmol/L) ($OR = 1,5$; $IC\ 95\% 0,91-2,46$ y $OR = 2,46$; $IC\ 95\% 0,9-6,71$ respectivamente) o cuando éste coexistía con un bajo nivel sérico de vitamina B_{12} , definido como nivel de holotranscobalamina < 45 pmol/L.

A diferencia del estudio de Ramos et al.²³ en población latina, otro estudio desarrollado en Estados Unidos tras la fortificación de alimentos con ácido fólico

describe una asociación diferente entre folato y deterioro cognitivo²⁷. Utilizando los datos de la Encuesta Nacional de Salud de los Estados Unidos (NHANES 1999 y 2002) y la Prueba de Codificación de Dígitos y Símbolos de la Escala de Inteligencia de Wechsler para adultos III como evaluación del estado cognitivo en relación a nivel de folato, Morris et al.³⁰ muestra que un nivel elevado de folato sérico (> 59 nmol/L) cuando se asocia a un bajo nivel sérico de vitamina B₁₂ definido como < 148 pmol/L o como un nivel de AAM > 60-210 nmol/L determinaría un riesgo de deterioro cognitivo cinco veces mayor (OR = 4,9; IC 95% 2,6-9,2). Por otra parte, cuando los niveles folato sérico son elevados y los de vitamina B₁₂ son normales se obtendría un efecto protector (OR = 0,5; IC 95% 0,2-0,96). Estos mismos autores sugieren que altos niveles de folato sérico y bajos de vitamina B₁₂ podrían determinar niveles mayores no sólo de homocisteína, sino también de ácido metilmalónico (AMM) que se produciría por una falla en el funcionamiento de las enzimas ligadas a la vitamina B₁₂ (metionina-sintetasa y metil-malonil-CoA-mutasa)^{28,29}. Estos resultados son consistentes con los datos publicados por Miller et al.³¹ que muestran que los sujetos con niveles más elevados de folato sérico pero más bajo de vitamina B₁₂ presentaban las más altas concentraciones de homocisteína y AMM y la más baja concentración de holotranscobalamina, aún cuando el punto de corte definido para folatos séricos en este estudio fue más bajo (45,3 nmol/L). Sin embargo, en este estudio no se observan diferencias significativas en la función cognitiva entre grupos con alto y bajo nivel sérico de folatos y un nivel de vitamina B₁₂ < 148 pmol/L³¹.

Un estudio posterior¹⁶ que analiza el desempeño cognitivo en la misma población (NHANES 1999-2002), aplicando la misma prueba de valoración de la función cognitiva, muestra un riesgo similar a lo descrito anteriormente en relación a altos niveles de folatos séricos y bajos de vitamina B₁₂, considerando no sólo el nivel sérico de esta vitamina, sino incorporando además el nivel de AMM (> 210 nmol/L) (OR = 5,1 IC 95% 2,7-9,5).

Un estudio reciente en adultos mayores de 60 años que analizó en forma separada los niveles de 5 metil-THF y de ácido fólico sérico³⁰ encontró que alrededor de la mitad de la población que consumía sobre 584 µg/día de ácido fólico presentaba en sangre niveles detectables sin metabolizar. Aquellos que, además, tenían un bajo nivel sérico de vitamina B₁₂ definido como < 148 pmol/L o un nivel elevado de AMM ≥ 210 nmol/L, presentaban un desempeño cognitivo casi cinco puntos inferior a aquellos sin ácido fólico sérico libre evaluados a través la Prueba de Codificación de Dígitos y Símbolos (Coeficiente β = -4,86 IC 95% -9,09-0,63). Cuando se analiza los sujetos que presentaban un mayor nivel sérico de folato, pero sin ácido fólico circulante y que presentaban además bajos niveles de vitamina B₁₂, se describe un mayor riesgo para una menor ejecución cognitiva que no

alcanza significancia estadística (OR = 1,33; IC 95% 0,45-3,93). También se observa que la asociación específica entre nivel de 5-MTHF y el desempeño cognitivo fue positiva.

Estudios de cohorte

Dentro de los estudios seleccionados, algunos describen un mayor deterioro con menores niveles de folato^{22,33,34}; otros, en cambio, muestran un mayor riesgo de deterioro asociado a altos niveles³⁵ o bien los resultados no describen la existencia de una asociación^{36,37}.

Un estudio con adultos mayores holandeses mayores de 85 años seguidos durante 5 años³³ muestra que los sujetos con un nivel elevado de folato sérico (14,1 nmol/L) y de vitamina B₁₂ (259 pmol/L) logran los mejores puntajes en la evaluación cognitiva global medida por la prueba 3MMS, al igual que aquellos con un bajo nivel de homocisteína (cuartil inferior < 11,7 mmol/L). Los individuos que sobrevivieron a los 89 años mostraban una relación entre función cognitiva similar cuando se mantenía esta relación de folatos y vitamina B₁₂. Cuando se evaluó la influencia de los niveles de folato, vitamina B₁₂ y homocisteína durante cada año del seguimiento, los resultados de las diversas pruebas de ejecución cognitiva también mostraron una asociación semejante; sin embargo, los niveles iniciales de vitaminas no fueron capaces de predecir el rango de deterioro en los años siguientes, siendo el tiempo, la variable más significativa para el deterioro cognitivo en este grupo de adultos mayores.

En un estudio desarrollado en 3.718 norteamericanos mayores de 65 años, Morris et al.³⁵ observan que una mayor ingesta de folato total se asocia positivamente con una mayor declinación cognitiva medida por diferentes pruebas: Mini-Examen del Estado Mental (MMSE), "East Boston Test" y la Prueba de Codificación de Dígitos y Símbolos. En los análisis ajustados por diversas variables demográficas y educacionales se observa que los sujetos con un mayor consumo de folatos y que recibían más de 400 µg/día de ácido fólico presentaban una velocidad de deterioro cognitivo significativamente mayor que aquellos que no lo consumían (Coeficiente β = -0,3 vs Coeficiente β = -0,1 P 0,001). En los sujetos mayores de 80 años que presentaban mayores consumos de vitamina B₁₂ (20 µg/ día) se observó una menor declinación cognitiva, efecto que no se observaba en los ancianos de 70 años.

A diferencia de los estudios de Mooijaart et al.³³ y Morris et al.³⁵, otro estudio desarrollado en una cohorte de 1.779 americanos de origen mexicano entre 60 y 101 años, con posterioridad a la fortificación de alimentos, seguidos durante cuatro años medio, no describe una asociación entre el nivel de folato intraeritrocitario y la existencia de deterioro cognitivo³⁶.

Durga et al.³⁸ evaluó el efecto de la suplementación exclusiva de ácido fólico (800 µg/día) sobre la función cognitiva de un grupo de adultos holandeses con niveles de homocisteína superior a 13 ng/ml, valores normales de vitamina B₁₂ y que no presentaban deterioro cognitivo. La función cognitiva fue evaluada utilizando pruebas de memoria, velocidad sensitivo-motora, velocidad compleja, procesamiento de la información y fluidez verbal. Los mejores resultados se observaron en el grupo intervenido al final de los tres años de intervención, específicamente en las pruebas que evaluaban memoria (Diferencia de Puntaje Z = 0,131 IC 95% 0,032-0,233 P 0,01) y velocidad de procesamiento de información (Diferencia de Puntaje Z = 0,087 IC 95% 0,016-0,158 P 0,016). La fluidez verbal, así como la evaluación de la velocidad compleja, un área sensible en el envejecimiento que mide la atención selectiva y el tiempo en que se logra un mejor procesamiento de la información, no fueron afectadas por la suplementación con ácido fólico.

Otros estudios evalúan la función cognitiva y el efecto de la suplementación de ácido fólico asociado a otras vitaminas pero mediada por un descenso de nivel de homocisteína. Eussen et al.³⁹ investigaron si la suplementación diaria con altas dosis de vitamina B₁₂ (1.000 µg), sola o combinada con ácido fólico (400 µg), tendría efectos beneficiosos sobre la cognición de adultos mayores de 70 años con deficiencia moderada de vitamina B₁₂. Tras 24 semanas de suplementación, se observó un aumento en los niveles de folato, de vitamina B₁₂, de holotranscobalamina, una caída en AMM y de homocisteína en relación al grupo placebo. La ejecución cognitiva fue evaluada a través de múltiples pruebas en las áreas de atención, construcción, velocidad sensomotora, memoria y función ejecutiva. Los resultados no permiten observar una mejoría en la función cognitiva tras 24 semanas de suplementación con ácido fólico más vitamina B₁₂ o con una suplementación exclusiva de vitamina B₁₂. En este estudio, tanto los suplementados con ácido fólico más vitamina B₁₂, como aquellos que recibieron sólo vitamina B₁₂, así como también el grupo placebo, muestran una mejoría significativa en las pruebas de memoria, destacando incluso un resultado significativamente mejor en el grupo control en las pruebas de retención de dígitos y reconocimiento de palabras.

Un estudio desarrollado en Nueva Zelanda en adultos mayores de 70 años suplementados con 1.000 µg/día de ácido fólico, 500 µg de vitamina B₁₂ y 10 mg de vitamina B₆ y cuyo objetivo era demostrar que la disminución de la homocisteinemia podía asociarse a una mejoría en la función cognitiva⁴⁰ no mostró mejores resultados en las pruebas de desempeño cognitivo cuando el nivel de folato sérico aumenta y el de homocisteína se reduce de 13 a 4,23 µmol/L. Al igual que lo observado por Eussen et al.³⁹, el grupo control muestra

un mejor resultado en el puntaje combinado de las ocho pruebas de cognición utilizadas.

La intervención en 299 hombres australianos hipertensos mayores de 75 años suplementados con ácido fólico (2 mg), vitamina B₆ (25 mg) y B₁₂ (0,4 mg) durante dos años no muestra diferencias en las pruebas de ejecución cognitiva entre individuos tratados y no tratados⁴¹. Tras ocho años de seguimiento, se observa una disminución no significativa (28%) del riesgo de fallo cognitivo y de demencia (OR = 0,72; IC 95% 0,25-2,09 y OR = 0,72; IC 95% 0,29-1,78, respectivamente) sugiriendo que una suplementación diaria no reduce el riesgo de deterioro cognitivo en ancianos. Aún cuando en otros estudios clínicos se observa una reducción del nivel de homocisteína asociado a la suplementación de ácido fólico y otras vitaminas asociadas al metabolismo del folato, especialmente de vitamina B₁₂, los beneficios de esta intervención en la cognición no logran ser demostrados en forma clara y convincente^{42, 43}.

Discusión

Los folatos cumplen importantes funciones en el crecimiento, diferenciación, desarrollo y reparación cerebral, así como también, en la cognición, ánimo y envejecimiento. Un bajo aporte determina errores en la síntesis, transcripción e integridad del ADN determinado por una menor producción de purinas, especialmente de timidina y por un aumento en los niveles de homocisteína. También determina una menor donación de metilos y metilación del ADN, importante no sólo para la expresión genética, sino también para otros mecanismos epigenéticos que pueden contribuir a la desmielinización y al recambio de monoaminas implicadas en la depresión⁴⁴. Estudios en animales muestran que un aporte adecuado de ácido fólico determinaría un crecimiento de los axones sensoriales del cordón espinal de ratas contusas, sugiriendo que un aporte adecuado podría contribuir a la reparación del sistema nervioso de los adultos⁴⁵.

Por otra parte, una deficiencia severa y prolongada de folatos y de vitamina B₁₂ se relaciona con una menor síntesis de metionina a partir de la homocisteína, donde ambas vitaminas cumplen un rol como cofactor dependiente de la enzima metionina-sintetasa y que se traduce en un aumento en el nivel de homocisteína. Existe evidencia de que un alto nivel de homocisteína puede inducir daño en el sistema nervioso central determinando deterioro cognitivo, demencia y enfermedad de Alzheimer⁴⁶. Los mecanismos que explicarían este daño podrían estar dados por una falla en el metabolismo del glutatión o un aumento del estrés oxidativo que determinaría daño neuronal y que limitaría la reducción de vitaminas al interior de la neurona a una forma metabólicamente inactiva⁴⁶. El déficit de estas vitaminas también se asociaría a fallos en la metilación del ADN que podrían incrementar la síntesis del pép-

tido amiloide B determinante de la enfermedad de Alzheimer^{46,47}.

Si bien los estudios transversales no permiten determinar causalidad, los resultados observados sugieren que altas concentraciones séricas de folato estarían asociadas a una mejor ejecución cognitiva en adultos mayores^{13,14,21}. De Lau et al.¹⁴ describe una relación dosis respuesta que no se modifica cuando se ajusta por otras variables, entre ellas el nivel de homocisteína, sugiriendo que el efecto del folato en la función cognitiva no se relacionaría solamente con la disminución del nivel de homocisteína, sino que tendría un efecto independiente. Una de las limitaciones de los estudios transversales es el cambio en la ingesta dietética asociada al grado de deterioro cognitivo en los sujetos estudiados, que pueden modificar la ingesta de nutrientes y los niveles séricos de vitaminas, aún cuando en muchos de los estudios analizados se seleccionaron individuos sanos. Debe tenerse presente además, que otras variables como enfermedad vascular, uso de medicamentos o consumo de tabaco y alcohol también pueden modificar los resultados.

Cuando se comparan estudios que evalúan folatos y función cognitiva es importante considerar además, las diferencias en los niveles séricos de las poblaciones analizadas. Por ejemplo, en países con fortificación obligatoria de alimentos se ha observado un importante aumento de los niveles de folatos séricos^{8,11,48,49}, así como también en aquellos con fortificación voluntaria, aunque no en la magnitud de lo observado en Estados Unidos en la etapa post-fortificación de harina de trigo, donde un 65% de la población presenta niveles de folato sérico superiores a 30 nmol/L. En Inglaterra, un país con fortificación voluntaria, este aumento se ha asociado a un efecto positivo en la función cognitiva, pero que no necesariamente estaría mostrando el efecto de una suplementación prolongada y con altas dosis como la observada en los norteamericanos²⁴.

En algunos estudios desarrollados en la etapa post-fortificación de alimentos, se observa un efecto beneficioso en la función cognitiva en aquellos individuos que presentan altos niveles de folatos séricos y valores normales de vitamina B₁₂, pero cuando éstos se asocian a bajos niveles de vitamina B₁₂ se observa una mayor velocidad de deterioro cognitivo. Al parecer existiría una diferencia metabólica entre los folatos naturales que circulan normalmente como 5 metil-THF y el ácido fólico sintético. Este último es transformado a 5 metil-THF cuando atraviesa la mucosa intestinal por una enzima con capacidad de conversión limitada, por lo tanto, una ingesta elevada de ácido fólico puede determinar su aparición en la sangre en una forma sin metabolizar que podría ser significativo en el deterioro cognitivo y del funcionamiento del sistema nervioso central porque alteraría la síntesis de ADN. La hipótesis del atrapamiento de metilos explicaría las consecuencias del déficit de vitamina B₁₂ asociado a altos niveles de folatos y sus

consecuencias neuro-psiquiátricas. Altas concentraciones de folato sérico actuarían como antagonista tras la etapa de conversión del folato de 5-10 metil-THF a 5-metil-THF que es catalizada por la enzima metil-tetrahidrofolato-reductasa (MTHFR) y que es una reacción irreversible en condiciones fisiológicas. Como el 5-metil-THF dona metilos para la conversión de homocisteína a metionina en un proceso dependiente de la vitamina B₁₂, el déficit de esta vitamina produciría su acumulación dentro de la célula debido a que no puede ser convertida a tetrahidrofolato, el precursor obligado para la poliglutamación del folato y que permite su retención al interior de la célula, así como tampoco podría volver a convertirse en 5,10-metilén-THF. Este atrapamiento limitaría la síntesis de metionina que podría explicar los efectos observados en la parte cognitiva. Cuando existe una deficiencia de vitamina B₁₂ se produciría entonces no solo la acumulación de 5 MTHF, sino que el folato permanecería como monoglutamato porque no puede ser convertido a la forma de tetrahidrofolato necesario para la síntesis de poliglutamatos. De esta manera, el monoglutamato podría salir fácilmente de la célula a circulación^{50,51}.

El seguimiento de 3718 adultos mayores por Morris et al.³⁵ en población norteamericana muestra que altas ingestas de folatos, asociadas especialmente al consumo de suplementos de ácido fólico (400-1.200 mg/día) y bajos niveles séricos de vitamina B₁₂ se relacionarían con una mayor velocidad de declinación cognitiva en ancianos. La hipótesis de Selhub et al.²⁸ propone que altos niveles de folatos, especialmente de ácido fólico y algunos metabolitos como el dihidrofolato, la forma reducida del ácido fólico, podrían servir como aceptor de electrones (agentes oxidantes), acelerando el promedio de oxidación de la enzima metionina-sintetasa-cob(I)alamina catalíticamente activa a MS-cob(II)alamina, una forma inactiva; pudiendo, a través de esta oxidación intracelular, exacerbar el déficit de vitamina B₁₂. Esto determinaría un fallo primario de la enzima metionina-sintetasa que cataliza la conversión de homocisteína a metionina y que utiliza el 5-metil-tetrahidrofolato como donador de metilos, produciendo de este modo una menor disponibilidad de vitamina B₁₂ como cofactor para reacciones mitocondriales. De esta forma, se comprometerían algunas de las reacciones asociadas que aumentarían la deficiencia de vitamina B₁₂, los niveles de homocisteína y de AMM con las respectivas consecuencias neurológicas. Es decir, niveles elevados de folato sérico podrían interferir en la acción de la enzima metionina-sintetasa de una manera similar a lo observado con el uso del óxido nítrico, que oxida en forma irreversible el sitio de unión a la vitamina²⁸.

Por otra parte, algunos estudios describen que un bajo nivel de folato y un elevado nivel homocisteína estarían asociados a una menor ejecución cognitiva²². Esto podría contribuir a identificar sujetos en riesgo en forma precoz, aún cuando estos niveles de folatos y

de homocisteína no servirían para predecir cuanto sería el aumento de la declinación cognitiva³⁵. La homocisteína es un marcador de la alteración del ciclo del metabolismo de un carbono que tendría un efecto neurotóxico directo que podría ser modificado según algunos autores por el nivel de vitamina B₁₂, pero no necesariamente por el nivel de folato sérico. Es probable que en estos estudios, la asociación con folato no aparezca como significativa, debido a que en muchas de las poblaciones analizadas no se encuentran sujetos con deficiencias como resultado de la fortificación de alimentos.

La existencia de estudios que describen una relación entre folatos y función cognitiva que dependería del nivel sérico de vitamina B₁₂^{30,52} determina la necesidad de revisar cuales son los parámetros utilizados para determinar su deficiencia. Esta consideración pareciera importante porque se ha observado que cuando se utiliza exclusivamente nivel sérico de vitamina B₁₂ se subestima el déficit⁵². La incorporación de otros marcadores de deficiencia más sensibles como el AMM y la holotranscobalamina permitirían un mejor diagnóstico y una mejor identificación de las relaciones entre folato y vitamina B₁₂. Se han establecido como puntos de corte adecuado para nivel sérico de vitamina B₁₂ sobre 150 pmol/L basado en el menor nivel de AMM observado y de 300 pmol/L considerando el nivel más bajo de homocisteína^{52,53}.

De los seis estudios clínicos randomizados, solo uno evalúa el efecto exclusivo de la suplementación de ácido fólico (800 µg) en la función cognitiva. Los estudios que evalúan el efecto del ácido fólico, en conjunto con otras vitaminas del ciclo de folato, en la disminución del nivel de homocisteína y la función cognitiva no describen una asociación, destacando en algunos de ellos, que el mejor desempeño se observa en los sujetos no intervenidos^{3,40}. Esta mejor respuesta podría corresponder a un efecto placebo o bien a un proceso de aprendizaje secundario a la repetición de las pruebas de evaluación cognitiva. A diferencia de los efectos observados en estos estudios, Durga et al.³⁸ describe resultados positivos asociados a la suplementación de ácido fólico que podrían ser atribuidos a las características de los sujetos estudiados, quienes presentaban al inicio altos niveles de homocisteína y valores normales de vitamina B₁₂. Sin embargo, este estudio no permite establecer si los efectos positivos descritos en relación a cognición se podrían observar también con menores dosis de ácido fólico.

Una limitante en los resultados de los estudios randomizados analizados es el tiempo de evaluación, que varía entre tres a veinticuatro meses, que podría ser insuficiente para observar los efectos derivados de la intervención. Las diferencias existentes al inicio de los estudios de variables tales como nivel educacional y función cognitiva, también son determinantes de los resultados al final del período de observación, pudiendo constituir una limitación sino son adecuadamente controladas. Estas diferencias pueden modificar las respuestas en las pruebas de función cognitiva, de

tal modo que sujetos con una menor función cognitiva o diferente nivel educacional podrían tener resultados diferentes con pruebas de evaluación similares. Es importante considerar, además, que los sujetos estudiados por ser adultos mayores tienen en esta etapa de la vida un mayor riesgo de deterioro cognitivo que puede limitar la interpretación de los resultados.

La gran diversidad de pruebas utilizadas en los diversos estudios para evaluar función cognitiva limita la comparación de los resultados y donde una agregación de puntajes de las diferentes pruebas puede confundir aún más los resultados. Por ello, pareciera recomendable en futuros estudios, utilizar sólo pruebas estandarizadas y validadas por especialistas que permitan evaluar cada prueba por separado, conocer los resultados de pruebas combinadas y diferenciar los resultados según área cognitiva.

Al igual que lo descrito en otras revisiones sistemáticas y metanálisis^{54,56}, esta revisión no permite concluir que la suplementación de ácido fólico tenga un efecto positivo en la función cognitiva de los adultos mayores. Considerando los resultados de algunos estudios que muestran que bajos niveles séricos de folatos y vitamina B₁₂ determinarían niveles elevados de homocisteína, un factor de riesgo independiente para deterioro cognitivo y considerando que otros estudios describen una mayor velocidad de deterioro cognitivo con niveles elevados de folato sérico cuando coexiste con un bajo nivel sérico de vitamina B₁₂, pareciera recomendable como medida precautoria, revisar los niveles de fortificación de alimentos, en especial en los países con fortificación mandataria de ácido fólico, así como también la entrega de suplementos que lo contienen, para así mantener el efecto preventivo de deterioro cognitivo en la deficiencia de folatos, pero limitando una ingesta elevada, especialmente cuando ésta se asocia a un déficit de vitamina B₁₂.

Referencias

1. Gillette Guyonnet S, Abellan Van Kan G, Andrieu S, Barberger Gateau P, Berr C, Bonnefoy M et al. IANA task force on nutrition and cognitive decline with aging. *J Nutr Health Aging* 2007; 11 (2): 132-5).
2. Del Parigi A, Panza F, Capurso C, Solfrizzi V. Nutritional factors, cognitive decline, and dementia. *Brain Res Bull* 2006; 69 (1): 1-19).
3. Smith PJ, Blumenthal JA. Diet and neurocognition: review of evidence and methodological considerations. *Curr Aging Sci* 2010; 3 (1): 57-66.
4. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Dietary reference intakes: thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B6, folate, vitamin B₁₂, pantothenic acid, biotin, and choline. A Report of the Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes and its Panel on Folate, Other B Vitamins and Choline and Subcommittee on Upper Reference Levels of Nutrients. Washington, DC: National Academy Press, 1998.
5. Quadri P, Fragiaco C, Pezzati R, Zanda E, Forloni G, Tettamanti M et al. Homocysteine, folate, and vitamin B₁₂ in mild cognitive impairment, Alzheimer disease, and vascular dementia. *Am J Clin Nutr* 2004; 80 (1): 114-22.
6. Mischoulon D, Raab MF. The role of folate in depression and dementia. *J Clin Psychiatry* 2007; 68 (Suppl. 10): 28-33.

7. Reynolds E. Vitamin B₁₂, folic acid, and the nervous system. *Lancet Neurol* 2006; 5 (11): 949-60.
8. Castillo C, Tur JA, Uauy R. Flour fortification with folic acid in Chile. Unintended consequences. *Rev Med Chil* 2010; 138 (7): 832-40.
9. Lawrence MA, Chai W, Kara R, Rosenberg IH, Scott J, Tedstone A. FDA. Examination of selected national policies towards mandatory folic acid fortification. *Nutr Rev* 2009; 67 (Suppl. 1): S73-8.
10. Llanos A, Hertrampf E, Cortes F, Pardo A, Grosse SD, Uauy R. Cost-effectiveness of a folic acid fortification program in Chile. *Health Policy* 2007; 83 (2-3): 295-303.
11. Sánchez H, Albala C, Hertrampf E, Verdugo R, Lavados M, Castillo J et al. Prevalence of vitamin B₁₂ deficiency in older adults]. *Rev Med Chil* 2010; 138 (1): 44-52.
12. Hirsch S, De la Maza P, Barrera G, Gattás V, Petermann M, Bunout D. The Chilean flour folic acid fortification program reduces serum homocysteine levels and masks vitamin B₁₂ deficiency in elderly people. *J Nutr* 2002; 132 (2): 289-91.
13. Feng L, Ng TP, Chuah L, Niti M, Kua EH. Homocysteine, folate, and vitamin B₁₂ and cognitive performance in older Chinese adults: findings from the Singapore Longitudinal Ageing Study. *Am J Clin Nutr* 2006; 84 (6): 1506-12.
14. De Lau LM, Refsum H, Smith AD, Johnston C, Breteler MM. Plasma folate concentration and cognitive performance: Rotterdam Scan Study. *Am J Clin Nutr* 2007; 86 (3): 728-34.
15. Selhub J, Morris MS, Jacques PF, Rosenberg IH. Folate-vitamin B₁₂ interaction in relation to cognitive impairment, anemia, and biochemical indicators of vitamin B₁₂ deficiency. *Am J Clin Nutr* 2009; 89 (2): 702S-6S.
16. Sweeney MR, McPartlin J, Scott J. Folic acid fortification and public health: report on threshold doses above which unmetabolised folic acid appear in serum. *BMC Public Health* 2007; 7: 41.
17. Kim Yi. Folate and colorectal cancer: an evidence-based critical review. *Mol Nutr Food Res* 2007; 51 (3): 267-92.
18. Ray JG, Vermeulen MJ, Boss SC, Cole DE. Declining rate of folate insufficiency among adults following increased folic acid food fortification in Canada. *Can J Public Health* 2002; 93: 249-253.
19. Choumenkovitch SF, Selhub, Wilson PF, Rader JI, Rosenberg IH, Jacques P. Folic acid intake from fortification in United States exceeds predictions. *J Nutr* 2002; 132: 2792-2798.
20. Kim JM, Kim SW, Shin IS, Yang SJ, Park WY, Kim SJ et al. Folate, vitamin B(12), and homocysteine as risk factors for cognitive decline in the elderly. *Psychiatry Investig* 2008; 5 (1): 36-40.
21. Tettamanti M, Garrì MT, Nobili A, Riva E, Lucca U. Low folate and the risk of cognitive and functional deficits in the very old: the Monzino 80-plus study. *J Am Coll Nutr* 2006; 25 (6): 502-8.
22. Kado DM, Karlamangla AS, Huang MH, Troen A, Rowe JW, Selhub J et al. Homocysteine versus the vitamins folate, B₆, and B₁₂ as predictors of cognitive function and decline in older high-functioning adults: MacArthur Studies of Successful Aging. *Am J Med* 2005; 118 (2): 161-7.
23. Ramos MI, Allen LH, Mungas DM, Jagust WJ, Haan MN, Green R et al. Low folate status is associated with impaired cognitive function and dementia in the Sacramento Area Latino Study on Aging. *Am J Clin Nutr* 2005; 82 (6): 1346-52.
24. Clarke R, Sherliker P, Hin H, Molloy AM, Nexø E, Ueland PM et al. Folate and vitamin B₁₂ status in relation to cognitive impairment and anaemia in the setting of voluntary fortification in the UK. *Br J Nutr* 2008; 100 (5): 1054-9.
25. Vidal JS, Dufouil C, Ducros V, Tzourio C. Homocysteine, folate and cognition in a large community-based sample of elderly people—the 3C Dijon Study. *Neuroepidemiology* 2008; 30 (4): 207-14.
26. Lee LK, Shahar S, Rajab N. Serum folate concentration, cognitive impairment, and DNA damage among elderly individuals in Malaysia. *Nutr Res* 2009; 29 (5): 327-34.
27. Morris MS, Jacques PF, Rosenberg IH, Selhub J. Folate and vitamin B₁₂ status in relation to anemia, macrocytosis, and cognitive impairment in older Americans in the age of folic acid fortification. *Am J Clin Nutr* 2007; 85 (1): 193-200.
28. Selhub J, Savaria MS, Jaques PF. In vitamin B₁₂ deficiency, higher serum folate is associated with increased total homocysteine and methylmalonic acid concentrations. *Proc Natl Acad Sci* 2007; 104 (50): 19995-20000.
29. Morris MS, Jacques PF, Rosenberg IH, Selhub J. Hyperhomocysteinemia associated with poor recall in the third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Clin Nutr* 2001; 73 (5): 927-33.
30. Morris MS, Jacques PF, Rosenberg IH, Selhub J. Circulating unmetabolized folic acid and 5-methyltetrahydrofolate in relation to anemia, macrocytosis, and cognitive test performance in American seniors. *Am J Clin Nutr* 2010; 91 (6): 1733-44.
31. Miller JW, Garrod MG, Allen LH, Haan MN, Green R. Metabolic evidence of vitamin B₁₂ deficiency, including high homocysteine and methylmalonic acid and low holotranscobalamin, is more pronounced in older adults with elevated plasma folate. *Am J Clin Nutr* 2009; 90 (6): 1586-92.
32. Álvarez-Sabin J, Donato JM. Lesiones de la sustancia blanca cerebral: significado clínico y mecanismos fisiopatológicos. *Hipertensión y riesgo cardiovascular* 2004; 21 (1): 38-42.
33. Mooijaart SP, Gussekloo J, Frölich M, Jolles J, Stott DJ, Westendorp RG, et al. Homocysteine, vitamin B₁₂, and folic acid and the risk of cognitive decline in old age: the Leiden 85-Plus study. *Am J Clin Nutr* 2005; 82 (4): 866-71.
34. Tucker KL, Qiao N, Scott T, Rosenberg I, Spiro A 3rd. High homocysteine and low B vitamins predict cognitive decline in aging men: the Veterans Affairs Normative Aging Study. *Am J Clin Nutr* 2005; 82 (3): 627-35.
35. Morris MC, Evans DA, Bienias JL, Tangney CC, Hebert LE, Scherr PA et al. Dietary folate and vitamin B₁₂ intake and cognitive decline among community-dwelling older persons. *Arch Neurol* 2005; 62: 641-5.
36. Haan MN, Miller JW, Aiello AE, Whitmer RA, Jagust WJ, Mungas DM, et al. Homocysteine, B vitamins, and the incidence of dementia and cognitive impairment: results from the Sacramento Area Latino Study on Aging. *Am J Clin Nutr* 2007; 85 (2): 511-7.
37. Kang JH, Irizarry MC, Grodstein F. Prospective study of plasma folate, vitamin B₁₂, and cognitive function and decline. *Epidemiology* 2006; 17 (6): 650-7.
38. Durga J, van Boxtel MP, Schouten EG, Kok FJ, Jolles J, Katan MB et al. Effect of 3-year folic acid supplementation on cognitive function in older adults in the FACIT trial: a randomised, double blind, controlled trial. *Lancet* 2007; 369 (9557): 208-16.
39. Eussen SJ, de Groot LC, Joosten LW, Bloo RJ, Clarke R, Ueland PM et al. Effect of oral vitamin B-12 with or without folic acid on cognitive function in older people with mild vitamin B₁₂ deficiency: a randomized, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2006; 84 (2): 361-70.
40. McMahon JA, Green TJ, Skeaff CM, Knight RG, Mann JJ, Williams SM. A controlled trial of homocysteine lowering and cognitive performance. *N Engl J Med* 2006; 354 (26): 2764-72.
41. Ford AH, Flicker L, Alfonso H, Thomas J, Clarinette R, Martins R et al. Vitamins B₁₂, B₆, and folic acid for cognition in older men. *Neurology* 2010; 75 (17): 1540-7.
42. Stott DJ, MacIntosh G, Lowe GD, Rumley A, McMahon AD, Langhorne P, et al. Randomized controlled trial of homocysteine-lowering vitamin treatment in elderly patients with vascular disease. *Am J Clin Nutr* 2005; 82 (6): 1320-6.
43. Lewerin C, Matousek M, Steen G, Johansson B, Steen B, Nilsson-Ehle H. Significant correlations of plasma homocysteine and serum methylmalonic acid with movement and cognitive performance in elderly subjects but no improvement from short-term vitamin therapy: a placebo-controlled randomized study. *Am J Clin Nutr* 2005; 81 (5): 1155-62.
44. Reynolds EH. Folic acid, ageing, depression, and dementia. *BMJ* 2002; 324 (7352): 1512-5.
45. Iskandar BJ, Nelson A, Resnick D, Skene JH, Gao P, Johnson C et al. Folic acid supplementation enhances repair of the adult central nervous system. *Ann Neurol* 2004; 56 (2): 221-7.

46. McCaddon A, Regland B, Hudson P, Davies G. Functional vitamin B₁₂ deficiency and Alzheimer disease. *Neurology* 2002; 58 (9): 1395-9.
47. Irizarry MC, Gurol ME, Raju S, Diaz-Arrastia R, Locascio JJ, Tennis M et al. Association of homocysteine with plasma amyloid beta protein in aging and neurodegenerative disease. *Neurology* 2005; 65 (9): 1402-8.
48. Quinlivan EP, Gregory JF 3rd. Effect of food fortification on folic acid intake in the United States. *Am J Clin Nutr* 2003; 77 (1): 221-5.
49. Brown RD, Langshaw MR, Uhr EJ, Gibson JN, Joshua DE. The impact of mandatory fortification of flour with folic acid on the blood folate levels of an Australian population. *Med J Aust* 2011; 194 (2): 65-7.
50. Quinlivan EP. In vitamin B₁₂ deficiency, higher serum folate is associated with increased homocysteine and methylmalonic acid concentrations. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105 (5): E7.
51. Weir DG, Scott JM. Brain function in the elderly: role of vitamin B₁₂ and folate. *Br Med Bull* 1999; 55 (3): 669-82.
52. Selhub J, Jacques PF, Dallal G, Choumenkovitch S, Rogers G. The use of blood concentrations of vitamins and their respective functional indicators to define folate and vitamin B12 status. *Food Nutr Bull* 2008; 29 (2 Suppl.): S67-73.
53. Refsum H, Smith AD. Low vitamin B₁₂ status in confirmed Alzheimer's disease as revealed by serum holotranscobalamin. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003; 74: 959-61.
54. Balk EM, Raman G, Tatsioni A, Chung M, Lau J, Rosenberg IH. Vitamin B₆, B₁₂, and folic acid supplementation and cognitive function: a systematic review of randomized trials. *Arch Intern Med* 2007; 167 (1): 21-30.
55. Malouf R, Grimley Evans J. Folic acid with or without vitamin B₁₂ for the prevention and treatment of healthy elderly and demented people. *Cochrane Database Syst Rev* 2008; (4): CD004514.
56. Wald DS, Kasturiratne A, Simmonds M. Effect of folic acid, with or without other B vitamins, on cognitive decline: meta-analysis of randomized trials. *Am J Med* 2010; 123 (6): 522-527.