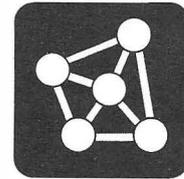


La vitamina B₁₂ y la dieta vegetariana



Dr. Alan M. Immerman

UNA REVISIÓN CRÍTICA

A. Introducción

Los vegetarianos no comen carne, ni pescado, ni volatería. Hay tres tipos de vegetarianos: los ovo-lacto (consumen huevos y derivados lácteos), los lacto (consumen derivados lácteos) y los vegetarianos (no consumen alimentos de origen animal). En los últimos años, muchas personas del mundo occidental se han vuelto vegetarianas por razones económicas, religiosas o de salud, y siguen esta dieta como la mayor parte de la población del mundo. Se cree que la dieta vegetariana es adecuada en general, excepto en lo que se refiere a la vitamina B₁₂ (se describen deficiencias de B₁₂). Por este motivo, un estudio que analice el estado de la vitamina B₁₂ en los vegetarianos es de gran importancia clínica y social.

B. Criterios para el diagnóstico de la deficiencia dietética de B₁₂

En los últimos 30 años, se han publicado muchos trabajos que relatan dietéticas de B₁₂, pero no se ha establecido ningún acuerdo sobre los criterios necesarios para su diagnóstico. Nosotros proponemos los siguientes criterios:

1) Ingesta menor al requerimiento mínimo de 1 mg. diario (1-8). La ingesta de algo menos de 200 cc. de leche (9), de aproximadamente unos 100 g. de queso (10) o de un huevo (10,11) ya nos suministraría esta cantidad de B₁₂.

2) Nivel sérico de B₁₂ anormalmente bajo.

3) Presencia de absorción normal de vitamina B₁₂, determinada por alguna de las técnicas que utilizan cianocobalamina radiactiva. Las pruebas de absorción rutinarias pueden no detectar las malabsorciones ligeras (12), y los informes de absorción normal deben ser interpretados con reservas.

4) Presencia de signos y síntomas anormales asociados a la deficiencia de B₁₂: anemia megaloblástica y/o degeneración subaguda combinada (10). La deficiencia de B₁₂ no puede ser diagnosticada si falta este criterio. Los individuos que presentan niveles bajos de B₁₂ y que no presentan manifestaciones clínicas de deficiencia se catalogan como "insaturados pero funcionalmente normales" (13) y no presentan ninguna deficiencia bioquímica.

5) Corrección de los signos y síntomas anormales con la administración oral de aproximadamente 1 mg. de B₁₂ diario (14).

6) Reducción de la excreción urinaria de B₁₂ (15). La excreción urinaria anormalmente alta de B₁₂ en diversas enfermedades renales o hepáticas (con retención insufi-

ciente de B₁₂) o los niveles inadecuados de proteínas transportadoras de B₁₂ del suero (16), pueden ocasionar una deficiencia de B₁₂ aunque el aporte dietético sea el adecuado.

7) Incremento de la excreción urinaria de metilmalónico, que algunos autores consideran como específica de la deficiencia de B₁₂ (17-20). Esta prueba, sin embargo, no es fácil de realizar debido a su complejidad.

La presencia de los criterios 1-5 es esencial para el diagnóstico de la deficiencia dietética de B₁₂. La presencia de los criterios 6 y 7 nos confirma dicho diagnóstico. Para poder catalogar si un vegetariano tiene un estado normal de vitamina B₁₂ se han de hacer exploraciones físicas y hematológicas para demostrar la ausencia de anemia megaloblástica y de la degeneración subaguda combinada.

C. La vitamina B₁₂ y los vegetarianos

Han aparecido muchos estudios sobre la vitamina B₁₂ y la dieta vegetariana. Una breve crítica de ellos nos hace observar que se han realizado muchas investigaciones incompletas y muchos diagnósticos poco convincentes. Los estudios se deberían repasar en los términos de los criterios señalados más arriba.

Kern (21), en 1932, informó del caso de un vegetariano anémico. Cumplía con los criterios 1 y 4, pero no con los 2 y 3. No queda claro qué cantidad de alimentos ricos en B₁₂ fueron necesarios para corregir la anemia, por lo que no sabemos si se cumplió el criterio número 5.

Badenoch (22) describió en 1952 dos casos de vegetarianos que sufrían de deficiencia dietética de B₁₂, pero no cumplió ninguno de los criterios para este diagnóstico. En 1954, *Badenoch* (23) describió el caso de otro vegetariano pero no cumplió con los criterios 1 y 2, y posiblemente tampoco con el 5, ya que no queda claro si el "tratamiento" con B₁₂ fue oral o parenteral.

Hardinge y *Stare* (24) estudiaron en 1954 a 26 vegetarianos. Se realizaron historias exhaustivas y se realizaron exámenes completos tanto físicos como de laboratorio. Se descubrió que estos sujetos no eran significativamente diferentes de los no vegetarianos.

Pollycove y cols. (25) estudió en 1955 a un vegetariano que cumplía con los criterios 1 y 4, pero no cumplió con el 5 al administrar parenteralmente la vitamina B₁₂. *Wokes* y cols. (26) estudiaron en 1955 a un grupo de vegetarianos y repasaron sus estudios con otros dos grupos. Su estudio cumplió los criterios 1, 2 y 4, pero no los 3 y 5.

En 1956, *Pollycove* y cols. (27) informaron de un caso único de anemia megaloblástica en un vegetariano. Cumplieron con los criterios 1-4, pero no con el 5. *Smith* (28)

estudió en 1962 a 12 vegetarianos. Se cumplieron los criterios 1 y 2; los 3 y 5 no y el n.º 4 se cumplió en 3 de los 12 sujetos. Los hallazgos clínicos a anormales de los 3 sujetos consistieron en anomalías electroencefalográficas que, en el caso descrito en detalle, no fueron corregidas con la administración de B₁₂ parenteral. Tal como dice el autor: "La cuestión no parece ser por qué alguna gente que sigue este tipo determinado de dieta sufre de deficiencia de vitamina B₁₂, sino por qué la mayoría de los sujetos no la padecen".

Connor y Pirola (29) estudiaron en 1963 dos casos. El caso 1 cumplía con los criterios 1, 2 y 4, pero no con los 3 y 5; había una disfunción del tracto gastrointestinal, y es improbable que los signos y síntomas de su deficiencia se hubieran desarrollado en ausencia de ésta. El caso 2 no cumplió con el criterio n.º 5.

Hines (30) presentó en 1960 el caso de un vegetariano con anemia megaloblástica. Es dudoso que la anemia se hubiera desarrollado si el paciente no hubiera sido un "donante de sangre habitual". *Winaver* y cols. (5) discutieron en 1967 el caso de un vegetariano que había desarrollado anemia 39 años después de haber excluido todos los alimentos animales de su dieta. Parecían cumplirse todos los criterios en este caso, pero parece plausible que la presencia de una gastritis concomitante podía ser la causa de una "secreción subóptima de factor intrínseco" (31) causando una "ligera malabsorción" (12); también, es probable que, si hubiera sido éste un caso de pura deficiencia dietética, la anemia debería haberse desarrollado algo antes y no tras 39 años de haber iniciado la dieta vegetariana. Los autores atribuyen este retraso a la ingestión esporádica de alimentos de origen animal en este período de tiempo, sin embargo, como que el paciente negó en todo momento esta afirmación, la posición del autor es insostenible.

Verjaal y Timmermans-Van den Bos (32) presentaron en 1967 el caso de un vegetariano que padecía una degeneración subaguda combinada muy bien documentada. Sin embargo, sólo cumplieron con los criterios 2 y 4. La presencia de "un gran número de complicaciones infecciosas severas que exigieron el uso de grandes dosis de varios antibióticos", junto con la falta de los criterios 1, 3 y 5 hacen de este caso un ejemplo poco convincente de una deficiencia dietética de B₁₂ pura.

West y Ellis (33) estudiaron en 1966 ciertos hallazgos electroencefalográficos (EEG) de vegetarianos. Las cifras del EEG eran ligeramente más anormales en los vegetarianos, pero estaban dentro de los límites del error de muestreo. Tres vegetarianos tenían un EEG absolutamente anormal, pero estas anomalías no se corrigieron con suplementos de B₁₂, por lo que no se cumplió el criterio n.º 5. Como que la B₁₂ no corrigió las cifras anormales del EEG, es dudoso que la anomalía fuera ocasionada por una deficiencia de B₁₂. En vista de ello, los autores concluyeron que las anomalías de EEG debían de haber sido producidas por un factor dietético no-B₁₂ dependiente, o a un reajuste cerebral metabólico debido a la dieta vegetariana. En cualquier caso, es difícil

diagnosticar una patología en estos sujetos que, en otras evaluaciones habían resultado como sanos.

En 1970, *Ellis y Montegriffo* (34) estudiaron a 26 vegetarianos de los cuales 7 no tomaban un suplemento dietético de B₁₂. En las conclusiones realizadas a partir de unas exploraciones físicas y de laboratorio completas expusieron que "no hay síntomas anormales ni signos de significación definida en los vegetarianos del presente estudio que nos indiquen una deficiencia nutricional". De hecho, 4 vegetarianos que habían seguido la dieta durante más de 13 años y que no ingerían ningún suplemento presentaban niveles normales de B₁₂.

Misra y Fallowfiel (35) presentaron en 1971 un caso con los criterios 1-4 pero no con el 5. La respuesta a la administración oral de B₁₂ no se evaluó debido a la presencia de una enfermedad neurológica en un estadio avanzado. *Shun y Kabakow* (36) estudiaron en 1972 a un vegetariano con anemia megaloblástica. Cumplieron los criterios 1-4, pero no el 5. Al comprobar que menos de la mitad de los vegetarianos estudiados por otros investigadores desarrollaban niveles bajos de B₁₂, los autores añadían que su caso de anemia podía haberse precipitado por una infección estreptocócica concurrente.

Roberts y cols. (37) investigaron en 1973 el estado de la vitamina B₁₂ en 322 vegetarianas indias embarazadas. En un 35% de los casos se observó un nivel bajo de vitamina B₁₂ en el suero, sin embargo, sólo una paciente desarrolló anemia megaloblástica. También informaron que ninguna de las pacientes sufrió de neuropatías. De este modo, el criterio 1 se cumplió en todos los sujetos, el criterio 2 en el 35% de esa cifra, el criterio 3 en ninguna paciente, el criterio 4 en 1 de las 322 pacientes, y el criterio 5 en ninguna. Encontraron, sin embargo, una correlación entre la macrocitosis y los niveles séricos de B₁₂, concluyéndose que "muchas de las pacientes presentan una suficiente reducción de los almacenes de B₁₂ como para alterar la función de la médula ósea". Pero en ausencia de una anemia declarada excepto en una paciente del grupo, y en ausencia de neuropatías, es nuevamente difícil diagnosticar una patología.

En 1978, *Sanders* y cols. (38) estudiaron a 34 vegetarianos. Todos "parecían saludables" y los hallazgos hematológicos eran normales. No encontraron casos de "valores patológicamente bajos de vitamina B₁₂ sérica" en un grupo de 10 sujetos que no tomaban ningún suplemento dietético de B₁₂. Esto podría haberse debido a que habían seguido la dieta vegetariana durante un período de tiempo inferior a 5 años, y a que se piensa que este período de 5 años es excesivamente corto para agotar los almacenes corporales de B₁₂ y producir signos y síntomas clínicos (4,84). Los autores concluyen que "la deficiencia dietética de B₁₂ es rara entre los vegetarianos", aunque sin embargo recomiendan la ingestión de suplementos B₁₂.

Higginbottom y col. (39) estudiaron en 1978 un caso de anemia megaloblástica asociada con anomalías neurológicas en "un lactante alimentado de pecho, hijo de una vegetariana estricta, que presentaba deficiencia de

vitamina B₁₂". La madre sólo cumplía con el criterio n.º 1, los criterios 1-4 y 7 los cumplía el niño, pero no los criterios 5 y 6. Los autores informan que "mientras que el suero del niño presentaba una severa deficiencia de vitamina B₁₂, el nivel sérico de esta vitamina en la madre estaba en el nivel más bajo de lo que se considera como normal"; de este modo, si todos los demás sistemas fisiológicos hubieran funcionado correctamente, la madre debería de haber sido capaz de transferir la suficiente vitamina B₁₂ a su hijo. Sobre la base de esta discrepancia, y debido a la falta de una investigación detallada en la madre, los autores llegan a la conclusión de que es importante el informar a los vegetarianos estrictos de la importancia de los suplementos de vitamina B₁₂. La conclusión del editorial de la revista *Nutrition Reviews* (40), basado en este estudio, que dice que "el vegetarianismo estricto (vegetalianos) de los países occidentales es una chifladura alimenticia que puede producir severas consecuencias" parece ser debida a una interpretación incorrecta de los hechos.

D. La vitamina B₁₂ y los lacto-vegetarianos

Es de esperar, a priori, que un lacto-vegetariano saludable que consume unos 200 ml. de leche o unos 100 g. de queso, o una combinación de ambos en menores cantidades de cada uno diariamente (véase la sección B para las referencias), presente unos niveles de B₁₂ normales y no presente patología asociada a deficiencia de esta vitamina. Un repaso a la literatura médica nos revela que esto sucede así en la realidad.

Se han presentado muchos casos como deficiencias dietéticas puras de B₁₂ en personas que tomaban productos lácteos o suplementos en una cantidad probablemente suficiente para aportar la cantidad adecuada de B₁₂ (41-48). En algunos estudios, los sujetos presentaban signos y síntomas de malabsorción (44, 45, 49), mientras que en otros, no se investigó si existía malabsorción (41, 42, 50-52). En un estudio, los signos de deficiencia podían haber sido causados por una ligera malabsorción como se refleja en los niveles "frontera" (en inglés: "borderline") de la absorción de D-xilosa y del caroteno sérico (47). Muchos de los estudios no cumplieron con el criterio n.º 5 (43-49). Sólo hay unos pocos estudios que hayan realizado un análisis profundo de los lacto-vegetarianos.

Stewart y cols. (53) presentaron en 1970 el primer caso bien documentado de deficiencia dietética de B₁₂. Los autores cumplieron con los criterios 1-5 y 7 en su investigación sobre una mujer india que consumía una media diaria de 0,5 mg. de B₁₂ a través de la leche. El único punto en el que puede ser criticado este estudio es en la observación de que muchos indios consumen la misma cantidad de B₁₂ (lo que discutiremos más adelante) y se ha encontrado que están saludables desde un punto de vista clínico. A la luz de estos hechos, es razonable el postular que en este caso podía haber algún tipo de disfunción fisiológica sutil que no permitiría a esta mujer permanecer sana con su consumo usual de B₁₂.

Singla y cols. (54) estudiaron en 1970 la deficiencia de B₁₂ en los niños y bebés de la India. La deficiencia estaba muy bien documentada tanto en los niños como en los bebés, pero no se investigó el tema de la absorción y de la respuesta a la administración oral de B₁₂ en las madres, de las cuales un 81,6% presentaban una anemia moderada. Si tenemos en cuenta que el esprue tropical es endémico en muchas áreas de la India (14), se ha de concluir que la malabsorción puede haber sido la causa de la deficiencia de B₁₂ en las madres. Debido a la posibilidad del esprue tropical, se afirmó que "el estado de la anemia megaloblástica nutricional es insatisfactorio, tal como se ha estudiado en la India y en otros lugares" (14).

Britt y cols. (55) estudiaron en 1971 a 25 emigrantes indios de Inglaterra. Todos los individuos presentaban anemia megaloblástica, y en 4 casos la causa era debida a una deficiencia dietética pura. Se cumplieron los criterios 1-4, presentándose una duda en cuanto al criterio n.º 5. Para cumplir con el criterio n.º 5, se le había de administrar por vía oral una dosis mínima de 1 mg. de B₁₂ diario, y debía de presentarse una respuesta hematológica positiva. En el paciente descrito con más detalle (el número 9), no sólo se le dio una dosis diaria de 5 mg. de B₁₂, sino que además recibió una transfusión sanguínea. Es posible, además, que a pesar de haber hallado unas tasas normales de absorción, la presencia de lombrices (*) en el intestino del paciente podría haber incrementado ligeramente las necesidades de B₁₂ de forma que el consumo diario de leche pudo no ser suficiente. Sabiendo que las tenias pueden producir deficiencia de B₁₂ (16), no es aventurado pensar que otras lombrices, como las de este paciente, puedan actuar en el mismo sentido, aunque en menor proporción.

Los tres estudios citados más arriba deberían ser considerados a la luz de los siguientes estudios, muchos de los cuales son incompletos en algún sentido. Cinco estudiantes de medicina indios y vegetarianos, considerados como "normales", aunque no se realizó ninguna exploración física, consumieron 170 ml. y 110 ml. de cuajada diarios, y presentaron hematócritos normales (56). Veintitrés campesinos iraníes que consumían pequeñas cantidades de un producto lácteo ("mast"), y "un poco de carne o pollo, aunque no más de una vez al mes", siguiendo el resto de los días una dieta vegetariana, presentaron niveles normales de vitamina B₁₂ sérica (57). 43 lacto-vegetarianos indios (consumo de leche: 150-300 ml. diarios), con niveles séricos de B₁₂ muy bajos, fueron catalogados como "normales" y "saludables" aunque no se realizaron recuentos hemáticos completos (RHC) ni exámenes físicos exhaustivos (58). Otro estudio de la India nos revela que se consideró como "saludables" a 17 sujetos, a pesar de la ingesta diaria de sólo 60-90 ml. de leche por día (59). Sin embargo, tampoco se hicieron exámenes físicos o RHC. En este mismo estudio se halló que 22 madres y sus respectivos hijos, alimentados exclusivamente de leche materna, eran saludables (59).

Otros investigadores han confirmado estos hallazgos en 50 indios, que consumían 150-300 ml. de leche diarios

(60), en 116 indios con 100-250 ml. de leche diarios (61), en 134 indios con una ingesta de 30-60 ml. de leche/día (62) y en 135 estudiantes de medicina indios consumiendo 100-250 ml. diarios. Todos estos estudios, sin embargo, son criticables puesto que el diagnóstico de normalidad se basaba exclusivamente en la anamnesis, sin realizar una exploración física (60-63). El RHC sólo se realizó en estos dos estudios (61-63), y los niveles de hemoglobina y el hematócrito en uno (62). No se investigó la presencia de anemia en uno de los estudios (63).

Finalmente, se halló que de 431 vegetarianos Adventistas del Séptimo día, algunos presentando niveles anormalmente bajos de B₁₂, sólo uno presentó alguna evidencia de patología neurológica o hematológica. Además, este sujeto tenía una gastrectomía parcial que es de esperar que interfiriera en la absorción de B₁₂ (64). Los valo-

La producción bacteriana de vitamina B₁₂ en el intestino delgado puede ser la razón de que su deficiencia sea rara en los vegetarianos puros.

res más altos de VCM (**) se hallaron en los que presentaban los niveles séricos de B₁₂ más bajos. Aunque indicaban una significación hematológica de estos niveles bajos de B₁₂, los valores de VCM no eran indicativos de patología, ya que estaban dentro de los valores considerados como normales.

E. La vitamina B₁₂ y el embarazo

Este aspecto requiere una atención especial, ya que el embarazo "produce un incremento de las necesidades de B₁₂ debido a la absorción fetal de esta vitamina en los almacenes maternos (65).

La mayor parte de la literatura que trata de vegetarianas gestantes debe de ser revisada. Algunos no han cumplido con uno o más de los criterios (30, 40, 45, 4, 54). Otros estudios incompletos en cuanto a documentación no han mostrado problemas aparentes para la madre, el feto o los bebés con lactancia materna exclusiva y como resultado de una dieta vegetariana (37) o lactovegetariana (59). Teóricamente, debería esperarse este resultado ya que el feto contiene sólo 50 mg. de B₁₂ almacenado, en comparación con los almacenes normales de B₁₂ de los adultos, que son de 3.000 mg. (37), de forma que "la absorción fetal en los almacenes maternos" no es importante.

Podría argüirse que, sin embargo, en algunos vegetarianos que presentan unos almacenes de B₁₂ disminuidos, el drenaje fetal puede ser más significativo. Pero esto no es lo que se halló generalmente en las embarazadas, ya que algunos presentaron anemia megaloblástica, pero sus hijos no fueron anémicos, aunque en un caso se encontraron megaloblastos intermedios en la médula ósea de un neonato (66). Esto no se había hallado en los estu-

dios anteriormente citados sobre vegetarianos (37,59). Confirmando esto, *Thomas* y cols. (67) en un breve informe, hallaron que "las mujeres vegetarianas embarazadas podían seguir con su dieta sin presentar ningún efecto adverso en ellas mismas o en su descendencia". Una explicación de por qué el feto de una madre con déficit de B₁₂ no sufre en sí mismo de los signos y síntomas de depleción lo encontramos en las explicaciones de *Baker* y cols. (66) y de *Okuda* y cols. (68), de que la B₁₂ se transfiere preferencialmente de la madre al feto.

En conclusión, esta frase e *Inamdar-Deshmukh* y cols. (63) es relevante: "En la India, los vegetarianos han vivido a través de los siglos, y han procreado y hecho crecer a los niños sanos, sin que comieran pescado, carne, ni aves. No hay ninguna evidencia para sugerir que esta población vegetariana que consume una alimentación lactovegetariana adecuada sea diferente de los no-vegetarianos".

F. Razones de las anomalías del estado de la B₁₂ en los vegetarianos

Esta revisión nos ha demostrado que gran parte de los estudios acerca de los niveles de B₁₂ en los vegetarianos no demuestran que las anomalías del nivel de esta vitamina, cuando se han observado, sean debidas a una deficiencia dietética pura de B₁₂. Hay muchos y muy complejos factores que pueden precipitar una deficiencia de B₁₂, así como sus signos y síntomas asociados, y es probable que sin su presencia no se desarrollarían problemas clínicos en los vegetarianos. Estos factores son:

1) Malabsorción de B₁₂: resultado de una deficiencia de factor intrínseco (por anemia perniciosa, gastritis atrófica crónica, gastrectomías totales y parciales), malabsorción selectiva de B₁₂, resección ileal, ileítis regional, deficiencia de folato, malnutrición proteica o proteico-calórica, radiación, drogas y toxinas (neomicina, colchicina, ácido para-amino salicílico, etabol), síndrome de Zollinger-Ellison, enfermedad pancreática crónica, esprue tropical, enfermedad celíaca, estasis del intestino delgado asociado con proliferación bacteriana, infestación por tenias (69), contraceptivos orales (70), deficiencia de B₁₂ (10, 49, 53). A la hora de excluir la malabsorción, los investigadores deberían tener en cuenta que el tan ampliamente usado test de Schilling no siempre detecta la malabsorción (12, 31, 71).

2) Excreción urinaria de B₁₂ anormalmente aumentada, debido a los niveles inadecuados de proteínas séricas transportadoras de B₁₂, a enfermedades hepáticas con retención inadecuada, o a enfermedad renal (16).

3) Tabaquismo (28, 72, 73).

4) Deficiencia de vitamina B₆ (1,10), o hierro (19).

5) Otros problemas diversos como el hipertiroidismo, hipotiroidismo y ciertas anomalías congénitas (16).

G. Razones para la aparente normalidad del estado de la B₁₂ en los vegetarianos

Tal como hemos afirmado anteriormente, no es sorprendente que los lacto o los ovo-lacto-vegetarianos

presenten normalidad en sus niveles B_{12} , desde el momento en que hay el aporte adecuado y necesario de esta vitamina a través de los alimentos que consumen. La pregunta más importante es por qué los vegetarianos presentan niveles normales de B_{12} , a pesar de que los pronósticos científicos nos indiquen lo contrario.

La siguiente es una lista de hipótesis, algunas de las cuales necesitan ser verificadas.

1) Absorción de B_{12} producida por las bacterias intestinales (26, 34, 38, 59, 74-76). Para que esto ocurriera, sería necesario que las bacterias produjeran B_{12} en el íleo, el lugar de absorción de la B_{12} , donde se liga con el factor intrínseco. Apoyando esta hipótesis, se ha demostrado que, en una minoría de gente, se producen crecimientos bacterianos en el íleo inferior (77). También hay que destacar que se produce más B_{12} por las bacterias que viven en el intestino de un vegetariano que en el de un comedor de carne (59). Posiblemente, una dieta vegetariana promueve la proliferación bacteriana en el íleo (59). Sin embargo, algunos autores opinan que la vitamina B_{12} producida en el intestino no es aprovechable por el cuerpo (78-80).

2) La absorción de coenzima B_{12} , una sustancia con actividad de B_{12} , por parte del intestino grueso, sin necesidad de factor intrínseco (78, 80-83, 87).

3) Circulación enterohepática perfecta (4,34). Si toda la B_{12} que es excretada por la bilis es reabsorbida por el íleo, sólo se perderán pequeñas cantidades, y de este modo las necesidades dietéticas pueden llegar a ser mínimas.

4) Tiempo de duración de la dieta vegetariana. Se necesita un período de 5-20 años sin ingesta suficiente de B_{12} para conseguir dejar exhaustos los depósitos corporales de B_{12} , y permitir el desarrollo de los signos y síntomas de deficiencia de B_{12} (4,84).

5) Ingestión de B_{12} a través del agua (14, 55, 80). El agua (***) de la India (55), e incluso el agua destilada (80) —si se almacena en condiciones de esterilidad— contiene algo de B_{12} .

6) Ingestión accidental de insectos y/o bacterias que contienen B_{12} (14, 38, 85).

7) Presencia de B_{12} en la raíz de las verduras debido a su absorción desde el suelo donde es producida por las bacterias (10, 14, 80, 86), o presencia de B_{12} del suelo en raíces de verduras mal lavadas (65).

8) Contaminación de otros alimentos vegetales con B_{12} producida por bacterias (10, 14, 75). Se han encontrado importantes cantidades de B_{12} en las judías tipo mungo, así como en los germinados de dichas judías (88), en las hojas de consuelda (80) —probablemente absorbida por el suelo y transportada hacia las hojas—, en los guisantes y en el trigo integral (89), en los frutos secos (26), en la lechuga, alfalfa y en el concentrado de cascarilla de arroz (90, 91), en los nódulos de las raíces de leguminosas (92-96), en varios tipos de hojas de nabo (97) y en los productos de fermentación de la soja (98). Sin embargo, en otros estudios no se ha encontrado B_{12} en ciertos cereales (centeno, arroz, avena, ciertos tipos de trigo), en las frutas, en muchas verduras, en las nueces —muchos tipos—

(14); y en algunos tipos de hojas de nabo (97), en los germinados de soja, cebada, patatas frescas, alubias, col, guisantes verdes u otros productos vegetales (100). De este modo, vemos que la presencia de B_{12} no es constante. Posiblemente, las prácticas agrícolas, como el uso del estiércol, influyen en el contenido de B_{12} (80).

9) Presencia de B_{12} en las algas marinas (101-105). Se encuentra en las algas azul-verdes, en las marrones y en las rojas, pero no en las verdes, habiendo cantidades significativas en estos tipos mencionados (102-103).

10) Protección debida a la distribución alterada de las cobalaminas séricas (36, 63, 82, 83, 106).

11) Niveles normales de B_{12} en los hematíes, como factor de protección (63), aunque esto ha sido cuestionado (107).

12) Falta de correlación entre los niveles de B_{12} y su actividad funcional (108).

13) Consumo de alimentos crudos primarios. La cocción destruye un porcentaje importante de la vitamina B_{12} presente en los alimentos (10, 53, 55, 109).

14) Excreción urinaria disminuida de vitamina B_{12} , como medida protectora (2,60).

H. Comentarios

Este trabajo ha revisado la literatura relacionada con el estado de la B_{12} en los vegetarianos, en términos de unos determinados criterios. Se ha insistido en que estos criterios debían cumplirse para poder hacer un diagnóstico válido de deficiencia dietética pura de B_{12} . Cuando se juzgan estos criterios, vemos que la mayor parte de los estudios que han hallado un estado inadecuado de la vitamina B_{12} en los lactovegetarianos y vegetarianos son poco convincentes. Por el otro lado, muchos estudios han hallado niveles aparentemente adecuados de B_{12} en individuos que seguían dietas de este tipo, aunque las investigaciones en algunos de estos estudios también son incompletas. Debe concluirse, de este modo, que la deficiencia dietética pura de B_{12} en todos los tipos de vegetarianos es más una excepción que una norma.

En algunos estudios (64,63), se ha notado una ligera macrocitosis en los vegetarianos. Sin embargo, como los valores estaban dentro del rango normal, la significación de este dato es cuestionable. Estos datos de laboratorio alterados nos puede indicar tanto una incipiente deficiencia de B_{12} como una variante normal entre los vegetarianos.

La posible incapacidad de los vegetarianos de mantener unos niveles adecuados de B_{12} en el padecimiento de gastritis, ileítis regional, etc., puede tener implicaciones nocivas para la salud. En este tipo de padecimientos crónicos se podría necesitar un aporte mayor de B_{12} . Sin embargo, ello no quiere decir que todos los vegetarianos deban de tomar profilácticamente este tipo de suplementos.

Una posible crítica que puede ser dirigida contra esta revisión puede ser hacia el rechazo de consideración de los estudios que no han investigado la absorción de B_{12} o la respuesta a la administración oral de B_{12} . Nosotros opinamos que está justificado por la siguiente razón:

mucha gente de los países occidentales se inclinan por la dieta vegetariana como un método de "última instancia" por el cual poder recuperar su salud. Es aceptable el pensar que estas personas puedan tener algún tipo de disfunción metabólica que pudiera interferir con la utilización de la B₁₂, y que pueda ser ésta la causa de sus problemas, y no simplemente una deficiencia dietética. De este modo, se explica que el rechazo de los estudios que no cumplieran con los criterios 3 y 5 es razonable.

Es importante reseñar el importante servicio que pueden presentar los médicos a los vegetarianos; al informarles de los factores que pueden causar una deficiencia de B₁₂ (déficit de folato, B₆ o hierro; uso de alcohol o de ciertas drogas; tabaquismo); a estar prevenidos de los síntomas iniciales de la deficiencia de B₁₂, al aconsejarles ir al médico si ocurriera este déficit, y a hacerles pruebas hematológicas y medidas de los niveles séricos de B₁₂ cada 4-5 años. En el caso improbable de que estos síntomas de deficiencia se presentaran, se debería aconsejar a los lactovegetarianos incrementar sus aportes de productos lácteos; y podría aconsejarse a los vegetarianos consumir algas marinas, una importante fuente de vitamina B₁₂ o en su defecto, consumir suplementos de vitamina B₁₂.

En esta revisión no hemos tratado de cuestionar la cifra que se considera como nivel "normal" de B₁₂. Esto es debido a que el rango normal varía de un laboratorio a otro, y entre un método de ensayo y otro, y que debido a que es necesario el considerar los niveles séricos de B₁₂ sólo en términos de su relevancia clínica: como queda claro en el criterio establecido como necesario para diagnosticar una deficiencia dietética de B₁₂, ya que es imperativo que esta deficiencia sólo puede ser diagnosticada si se hallan *tanto* niveles séricos anormalmente bajos *como* signos y síntomas patológicos. Si consideramos que un nivel bajo de B₁₂ es criterio suficiente como para diagnosticar una deficiencia de B₁₂, tendríamos que aceptar no sólo que la mayoría de vegetarianos occidentales presentan esta deficiencia, sino que también la presentan la mayoría de individuos de la India y de otros países orientales, lo cual es claramente inaceptable.

Nota del autor

Desde que remití este artículo para su publicación, las investigaciones han hallado que las bacterias del intestino delgado humano producen importantes cantidades de B₁₂. Esta investigación nos aporta más documentación para la hipótesis de que la producción bacteriana de B₁₂ en el intestino delgado pueda ser la razón por la que la deficiencia de B₁₂ es rara en los vegetarianos puros (Nature 283:781, 1980, "Vitamin B₁₂ Synthesis by Human Small Intestine Bacteria". MJ Albert; VI Mathan; SJ Baker)

RESUMEN

(1) Para diagnosticar una deficiencia dietética de B₁₂, se han de cumplir ciertos criterios diagnósticos, y estos se han expuesto.

(2) Muchos estudios sobre el estado de la B₁₂ en los ve-

getarianos no han cumplido uno o más de los criterios necesarios. De este modo, no se pueden sacar conclusiones válidas de esos estudios.

(3) Muchos estudios han demostrado que los vegetarianos de todos los tipos son generalmente normales y saludables.

(4) Muchas hipótesis se han avanzado para discutir el estado de la vitamina B₁₂ en los vegetarianos, y estas propuestas se han estudiado.

(5) Se han sugerido ciertas orientaciones para los médicos que traten a pacientes vegetarianos.

(*) En inglés "hookworms" se refiere a las lombrices de los géneros *Uncinaria* y *Anchilostoma duodenalis*.

(**) VCM: Volumen Corpuscular Medio.

(***) (N. del T.) Se refiere al agua de manantial de pozo y de cisternas (en inglés "well water").

— Dirección del autor: Dr. A.M. Immerman, D.C.; 7032 E. Hubell St., 1; Scottsdale, AZ 85257 (USA).

— Extraído de: World Review of Nutrition and Dietetics, vol. 37, pp. 38-54 (Karger, Basel 1981). Traducción: Josep Lluís Berdonces.

BIBLIOGRAFIA

- Grasbeck, R.: Physiology and pathology of vitamin B₁₂ absorption, distribution, and excretion. Adv. clin. Chem. 3: 299-366 (1960).
- Heyssel, R.M.; Bozian, R.C.; Darby, W.J.; Bell, M.C.: Vitamin B₁₂ turnover in man. Am. J. clin. Nutr. 18: 176-183 (1966).
- Sullivan, L.W.; Herbert, V.: Studies on the minimum daily requirement for vitamin B₁₂. New Engl. J. Med. 272: 340-346 (1965).
- Herbert, V.: Nutritional requirements for vitamin B₁₂ and folic acid. Am. J. clin. Nutr. 21: 743-752 (1968).
- Winawer, S.J.; Streiff, R.R.; Zamcheck, N.: Gastric and hematological abnormalities in a vegan with nutritional vitamin B₁₂ deficiency: effect of oral vitamin B₁₂. Gastroenterology 53: 130-135 (1967).
- Baker, S.J.: Human vitamin B₁₂ deficiency. Wld Rev. Nutr. Diet., vol. 8, pp. 62-126 (Karger, Basel 1967).
- Bozian, R.C.; Ferguson, J.L.; Heyssel, R.M.; Menzies, G.R.; Darby, W.J.: Evidence concerning the human requirement for vitamin B₁₂. Am. J. clin. Nutr. 12: 117-129 (1963).
- Darby, W.J.; Jones, E.; Clark, S.L., Jr.; McGanity, W.J.; Oliveira, J. de; Dutra, Perez, C.; Kevany, J.; Brocquy, J. le: The development of vitamin-B₁₂ deficiency by untreated patients with pernicious anemia. Am. J. clin. Nutr. 6: 513-518 (1958).
- Goodhart, R.S.; Shils, M.E.: Modern nutrition in health and disease; 5th ed., p. 668 (Lea & Febiger, Philadelphia 1973).
- Grasbeck, R.; Salonen, E.-M.: Vitamin B₁₂. Prog. Fd Nutr. Sci. 2: 193-231 (1976).
- Robinson, C.H.: Fundamentals of normal nutrition; 2nd ed., p.498 (Macmillan, New York 1973).
- Carmel, R.: Nutritional vitamin B₁₂ deficiency. Ann. intern. Med. 88: 746-749 (1978).
- Dann, W.J.; Darby, W.J.: The appraisal of nutritional status (nutriture) in humans. Physiol. Rev. 25: 326-346 (1945).
- Chanarin, I.: The megaloblastic anaemias; 1st ed., pp. 40-63, 708-714 (Blackwell, Oxford 1969).
- Heinrich, H.C.: Metabolic basis of the diagnosis and therapy of vitamin B₁₂ deficiency. Semin. Hematol. 1: 199-249 (1964).
- Goodhart, R.S.; Shils, M.E.: Metabolic basis of the diagnosis and therapy of vitamin B₁₂ deficiency. Semin. Hematol. 226-227 (1964).
- Barness, L.A.; Young, D.G.; Nocho, R.: Methylmalonate excretion in vitamin B₁₂ deficiency. Science 140: 76-77 (1963).
- Brozovic, M.; Hoffbrand, A.V.; Dimitriadou, A.; Mollin, D.L.: The excretion of methylmalonic acid and succinic acid in vitamin B₁₂ and folate deficiency. Br. J. Haemat. 13: 1021-1032 (1967).
- Sauberlink, H.E.; Skala, J.H.; Dowdy, R.P.: Laboratory tests for the assessment of nutritional status; 1st ed., pp. 60-70 (CRC Press, Cleveland 1974).
- White, A.M.; Cox, E.V.: Methylmalonic acid excretion and vitamin B₁₂ deficiency in the human. Ann. N.Y. Acad. Sci. 112: 915-921 (1964).
- Kern, R.A.: Diet as a factor in the etiology of anemia. Ann. intern. Med. new Ser. 5: 729-739 (1932).
- Badenoch, A.G.: Diet and stamina. Br. med. J. 11: 668 (1952).
- Badenoch, J.: The use of labelled vitamin B₁₂ and gastric biopsy in the investigation of anaemia. Proc. R. Soc. Med. 47: 426-427 (1954).
- Hardinge, M.G.; Stare, F.J.: Nutritional studies of vegetarians. I. Nutritional, physical, and laboratory studies. J. clin. Nutr. 2: 73-82 (1954).
- Pollycove, M.; Apt, L.; Colbert, M.J.: Pernicious anemia due to dietary deficiency of vitamin B₁₂. Blood 3: 28 (1955).
- Wokes, F.; Badenoch, J.; Sinclair, H.M.: Human dietary deficiency of vitamin B₁₂. Am. J. clin. Nutr. 3: 375-382 (1955).
- Pollycove, M.; Apt, L.; Colbert, M.J.: Pernicious anemia due to dietary deficiency of vitamin B₁₂. New Engl. J. Med. 225: 164-169 (1956).
- Smith, A.D.M.: Veganism: a clinical survey with observations on vitamin-B₁₂ metabolism. Br. med. J. 1: 1655-1658 (1962).

- 29 Connor, P.M.; Pirola, R.C.: Nutritional vitamin-B₁₂ deficiency. *Med. J. Aust.* *ii*: 451-453 (1963).
- 30 Hines, J.D.: Megaloblastic anemia in an adult vegan. *Am. J. clin. Nutr.* *19*: 260-268 (1964).
- 31 Editorial: Vegetarian diet and vitamin B₁₂ deficiency. *Nutr. Rev.* *36*: 243-244 (1978).
- 32 Veriaal, A.; Timmermans-Van den Bos, A.H.C.C.: Combined degeneration of the spinal cord due to deficiency of alimentary vitamin B₁₂. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* *30*: 464-467 (1967).
- 33 West, E.D.; Ellis, F.R.: The electroencephalogram in veganism, vegetarianism, vitamin B₁₂ deficiency, and in controls. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* *29*: 391-397 (1966).
- 34 Ellis, F.R.; Montegriffo, V.M.E.: Veganism, clinical findings and investigations. *Am. J. clin. Nutr.* *23*: 249-255 (1970).
- 35 Misra, H.N.; Fallowfield, J.M.: Subacute combined degeneration of the spinal cord in a vegan. *Post-grad. med. J.* *47*: 624-626 (1971).
- 36 Shun, D.J.; Kabakow, B.: Nutritional megaloblastic anemia in vegan. *N.Y. St. J. Med.* *72*: 2893-2894 (1972).
- 37 Roberts, P.D.; James, H.; Petric, A.; Morgan, J.O.; Hoffbrand, A.V.: Vitamin B₁₂ status in pregnancy among immigrants to Britain. *Br. med. J.* *iii*: 67-72 (1973).
- 38 Sanders, T.A.B.; Ellis, F.R.; Dickerson, J.W.T.: Haematological studies on vegans. *Br. J. Nutr.* *40*: 9-15 (1978).
- 39 Higginbottom, M.C.; Sweetman, L.; Nyhan, W.L.: A syndrome of methylmalonic aciduria, homocystinuria, megaloblastic anemia and neurologic abnormalities in a vitamin B₁₂-deficient breast-fed infant of a strict vegetarian. *New Engl. J. Med.* *299*: 317-323 (1978).
- 40 Editorial: Vitamin B₁₂ deficiency in the breast-fed infant of a strict vegetarian. *Nutr. Rev.* *37*: 142-144 (1979).
- 41 Patel, J.C.: Crystalline anti-pernicious-anemia factor in treatment of two cases of tropical macrocytic anaemia. *Br. med. J.* *ii*: 934-935 (1948).
- 42 Townsend, S.R.; Begor, F.B.: Pernicious anaemia due to deficiency of extrinsic factor. *Can. med. Ass. J. new Ser.* *47*: 352-354 (1942).
- 43 Banerjee, D.K.; Chatterjee, J.B.: Serum Vitamin B₁₂ in vegetarians. *Br. med. J.* *ii*: 992-994 (1960).
- 44 Das Gupta, C.R.; Chatterjee, J.B.: Vitamin B₁₂ in nutritional macrocytic anaemia. *Br. med. J.* *ii*: 645-649 (1953).
- 45 Jadhav, M.; Webb, J.K.G.; Vaishnava, S.; Baker, S.J.: Vitamin B₁₂ deficiency in Indian infants. *Lancet* *ii*: 903-907 (1962).
- 46 Lampkin, B.C.; Saunders, E.F.: Nutritional vitamin B₁₂ deficiency in an infant. *J. Pediatr.* *75*: 1053-1055 (1969).
- 47 Ledbetter, R.B., Jr.; Pozo, E. del: Severe megaloblastic anemia due to nutritional vitamin B₁₂ deficiency. *Acta haemat.* *42*: 247-253 (1969).
- 48 Gleeson, M.H.; Graves, P.S.: Complications of dietary deficiency of vitamin B₁₂ in young Caucasians. *Post-grad. med. J.* *50*: 464 (1974).
- 49 Schloesser, L.L.; Schilling, R.F.: Vitamin B₁₂ absorption studies in a vegetarian with megaloblastic anemia. *Am. J. clin. Nutr.* *12*: 70-74 (1963).
- 50 Wells, R.: Nutritional vitamin B₁₂ deficiency. *J. trop. Med. Hyg.* *61*: 81-92 (1958).
- 51 Taylor, G.F.; Chhuttani, P.N.; Kumar, S.: The meat ration and blood levels. *Br. med. J.* *ii*: 219-221 (1949).
- 52 Manson-Bahr, P.E.C.: Megaloblastic anaemia in Fiji. *J. trop. Med. Hyg.* *54*: 89-93 (1951).
- 53 Stewart, J.S.; Roberts, P.D.; Hoffbrand, A.V.: Response of dietary vitamin B₁₂ deficiency to physiological oral doses of cyanocobalamin. *Lancet* *ii*: 542-545 (1970).
- 54 Singla, P.N.; Saraya, A.K.; Ghai, O.P.: Vitamin B₁₂ and folic acid deficiency in nutritional megaloblastic anaemia of infancy and childhood. *Indian J. med. Res.* *50*: 599-604 (1970).
- 55 Britt, R.P.; Harper, C.; Spray, G.H.: Megaloblastic anaemia among Indians in Britain. *Q. J. Med. new Ser.* *40*: 499-520 (1971).
- 56 Dhopeswarkar, G.A.; Trivedi, J.C.; Kulkarni, B.S.; Satoskar, R.S.; Lewis, R.A.: The effect of vegetarianism and antibiotics upon proteins and vitamin B₁₂ in the blood. *Br. J. Nutr.* *10*: 105-110 (1956).
- 57 Halsted, J.A.; Carroll, J.; Dehghani, A.; Lohmani, M.; Prasad, A.S.: Serum vitamin B₁₂ concentration in dietary deficiency. *Am. J. clin. Nutr.* *8*: 374-376 (1960).
- 58 Satoskar, R.S.; Kulkarni, B.S.; Rege, D.V.: Serum proteins, cholesterol, vitamin B₁₂ and folic acid levels in lactovegetarians and nonvegetarians. *Indian J. med. Res.* *49*: 887-896 (1961).
- 59 Satyanarayana, N.S.: Plasma vitamin B₁₂ levels in vegetarians. *Indian J. med. Res.* *51*: 380-385 (1963).
- 60 Mehta, B.M.; Rege, D.V.; Satoskar, R.S.: Serum vitamin B₁₂ and folic acid activity in lactovegetarian and nonvegetarian healthy adult Indians. *Am. J. clin. Nutr.* *15*: 77-84 (1964).
- 61 Jathar, V.S.; Inamdar-Deshmukh, A.B.; Rege, D.V.; Satoskar, R.S.: Vitamin B₁₂ and vegetarianism in India. *Acta haemat.* *53*: 90-97 (1975).
- 62 Hirwe, R.; Jathar, V.S.; Desai, S.; Satoskar, R.S.: Vitamin B₁₂ and potential fertility in male lactovegetarians. *J. Biosoc. Sci.* *8*: 221-227 (1976).
- 63 Inamdar-Deshmukh, A.B.; Jathar, V.S.; Joseph, D.A.; Satoskar, R.S.: Erythrocyte vitamin B₁₂ activity in healthy Indian lactovegetarians. *Br. J. Haemat.* *32*: 395-401 (1976).
- 64 Armstrong, B.K.; Davis, R.E.; Nicol, D.J.; Merwyk, A.J.; van Larwood, C.J.: Hematological, vitamin B₁₂, and folate studies on Seventh-day Adventist vegetarians. *Am. J. clin. Nutr.* *27*: 712-718 (1974).
- 65 Goodhart, R.S.: Hematological, vitamin B₁₂, and folate studies on Seventh-day Adventist vegetarians. *Am. J. clin. Nutr.* *27*: 234 (1974).
- 66 Baker, S.J.; Jacob, E.; Raian, K.T.; Swaminathan, S.P.: Vitamin B₁₂ deficiency in pregnancy and the puerperium. *Br. med. J.* *i*: 1658-1661 (1962).
- 67 Thomas, J.; Ellis, F.R.; Diggory, P.L.C.: The health of vegans during pregnancy. *Proc. Nutr. Soc.* *36*: 46A (1977).
- 68 Okuda, K.; Helliger, A.E.; Chow, B.F.: Symposium on role of some of newer vitamins in human metabolism and nutrition, vitamin B₁₂ serum level and pregnancy. *Am. J. clin. Nutr.* *4*: 440-443 (1958).
- 69 Corcino, J.J.; Waxman, S.; Herbert, V.: Absorption and malabsorption of vitamin B₁₂. *Am. J. Med.* *48*: 562-569 (1970).
- 70 Weralik, L.F.; Metz, E.N.; LoBuglio, A.F.; Balcerzak, S.P.: Decreased serum B₁₂ levels with oral contraceptive use. *J. Am. med. Ass.* *221*: 1371-1374 (1972).
- 71 Mahmud, K.; Ripley, D.; Doscherholmen, A.: Vitamin B₁₂ absorption tests - their unreliability in postgastroectomy states. *J. Am. med. Ass.* *276*: 1167-1171 (1974).
- 72 Smith, A.D.M.: Retrobulbar neuritis in Addisonian pernicious anemia. *Lancet* *i*: 1001-1002 (1961).
- 73 Linnell, J.C.; Mackenzie, H.M.; Wilson, J.; Matthews, D.M.: Patterns of plasma cobalamins in control subjects and in cases of vitamin B₁₂ deficiency. *J. clin. Path.* *22*: 545-550 (1969).
- 74 Uphill, P.F.; Jacob, F.; Lall, P.: Vitamin B₁₂ production by the gastro-intestinal microflora of baboons fed either a vitamin B₁₂ deficient diet or a diet supplemented with vitamin B₁₂. *J. appl. Bact.* *43*: 333-444 (1977).
- 75 Wokes, F.: Anaemia and vitamin B₁₂ dietary deficiency. *Proc. Nutr. Soc.* *15*: 134-141 (1956).
- 76 Dyke, W.J.C.; Hind, H.G.; Ridgng, D.; Shaw, G.E.: Bacterial synthesis of vitamin B₁₂ in the alimentary tract. *Lancet* *i*: 486-488 (1950).
- 77 Gregan, J.; Hayward, N.J.: The bacterial content of the healthy human small intestine. *Br. med. J.* *i*: 1356-1359 (1953).
- 78 Grasbeck, R.: Physiology and pathology of vitamin B₁₂ absorption, distribution, and excretion. *Adv. clin. Chem.* *3*: 299-366 (1960).
- 79 Mickelsen, O.: Intestinal synthesis of vitamins in the nonruminant. *Vitam. Horm.* *14*: 1-95 (1956).
- 80 Smith, L.E.: Vitamin B₁₂. 3rd ed., pp. 14-21, 144-152 (Wiley & Sons, New York 1965).
- 81 Wasserman, L.R.; Estren, S.; Brody, E.; Herbert, V.: Intestinal absorption of vitamin B₁₂. *Lancet* *i*: 173-174 (1960).
- 82 Coates, M.E.; Doran, B.M.; Harrison, G.F.: Activity of vitamin B₁₂ coenzymes and antagonists in the chick and developing chick embryo. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* *112*: 837-843 (1964).
- 83 Herbert, V.; Sullivan, L.W.: Activity of coenzyme B₁₂ in man. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* *112*: 855-870 (1964).
- 84 Ellis, F.R.; Mumford, P.: The nutritional status of vegans and vegetarians. *Proc. Nutr. Soc.* *26*: 205-212 (1967).
- 85 Tonder, S.V.; van Metz, J.; Green, R.: Vitamin B₁₂ metabolism in the fruit bat (*Rousettus aegyptiacus*). The induction of vitamin B₁₂ deficiency and its effect on folate levels. *Br. J. Nutr.* *34*: 397-410 (1975).
- 86 Robbins, W.J.; Hervey, A.; Stebbins, M.E.: Studies on *Euglena* and vitamin B₁₂. *Science* *112*: 455 (1950).
- 87 Wasserman, L.R.; Estren, S.; Brody, E.; Herbert, V.: Intestinal absorption of vitamin B₁₂. *Lancet* *i*: 173-174 (1960).
- 88 Rohatgi, K.; Banerjee, M.; Banerjee, S.: Effect of germination on vitamin B₁₂ values of pulses (leguminous seeds). *J. Nutr.* *56*: 403-408 (1955).
- 89 Fries, L.: Vitamin B₁₂ in *Pisum sativum* (L.). *Physiologia Pl.* *15*: 566-571 (1962).
- 90 Hartman, A.M.; Dryden, L.P.; Cary, C.A.: The role and sources of vitamin B₁₂. *J. Am. diet. Ass.* *25*: 929-933 (1949).
- 91 Peeler, H.T.; Yacowitz, H.; Carlson, C.W.; Miller, R.F.; Norris, L.C.; Heuser, G.F.: Studies on the vitamin B₁₂ content of feedstuffs and other materials. *J. Nutr.* *43*: 49-61 (1951).
- 92 Evans, H.J.; Kliever, M.: Vitamin B₁₂ compounds in relation to the requirements of cobalt for higher plants and nitrogen-fixing organisms. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* *112*: 735-755 (1964).
- 93 Kliever, M.; Evans, H.J.: B₁₂ coenzyme content of the nodules from legumes, alder and of *Rhizobium meliloti*. *Nature, Lond.* *194*: 108-109 (1962).
- 94 Kliever, M.; Evans, H.J.: B₁₂ coenzyme content of the nodules from legumes, alder and of *Rhizobium meliloti*. *Nature, Lond.* *195*: 828 (1962).
- 95 Kliever, M.; Evans, H.J.: Effect of cobalt deficiency on the B₁₂ coenzyme content of *Rhizobium meliloti*. *Archs Biochem. Biophys.* *97*: 427-429 (1962).
- 96 Ford, J.E.; Hutner, S.H.: Role of vitamin B₁₂ in the metabolism of microorganisms. *Vitam. Horm.* *13*: 101-136 (1955).
- 97 Gray, L.F.; Daniel, L.J.: Studies on vitamin B₁₂ in turnip greens. *J. Nutr.* *67*: 623-634 (1959).
- 98 Liem, I.T.H.; Steinkraus, K.H.; Cronk, T.C.: Production of vitamin B₁₂ in tempeh, a fermented soybean food. *App. environ. Microbiol.* *34*: 773-776 (1977).
- 99 Bickoff, E.M.; Livingston, A.L.; Snell, N.S.: The occurrence of vitamin B₁₂ and other growth factors in alfalfa. *Archs Biochem.* *28*: 242-252 (1950).
- 100 Lewis, U.J.; Register, U.D.; Thompson, H.T.; Elvehjem, C.A.: Distribution of vitamin B₁₂ in natural materials. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* *72*: 479-482 (1949).
- 101 Combs, G.F.: Algae (*Chlorella*) as a source of nutrients for the chick. *Science* *116*: 453-454 (1952).
- 102 Ford, J.E.; Hutner, S.H.: Role of vitamin B₁₂ in the metabolism of microorganisms. *Vitam. Horm.* *13*: 101-136 (1955).
- 103 Ericson, L.E.; Banhidi, Z.G.: Bacterial growth factors related to vitamin B₁₂ and folic acid in some brown and red seaweeds. *Acta chem. scand.* *7*: 167-172 (1953).
- 104 Clement, G.; Giddey, C.; Menzi, R.: Amino acid composition and nutritive value of the alga *Spirulina maxima*. *J. Sci. Fd Agric.* *18*: 497-501 (1967).
- 105 Brown, F.; Cuthbertson, W.F.J.: Vitamin B₁₂ activity of *Chlorella vulgaris* Beij and *Anabaena cylindrica* Lemm. *Nature, Lond.* *177*: 188 (1956).
- 106 Linnell, J.C.; Hoffbrand, A.V.; Hussein, H.A.A.; Wise, I.J.; Matthews, D.M.: Tissue distribution of coenzyme and other forms of vitamin B₁₂ in control subjects and patients with pernicious anaemia. *Clin. Sci. mol. Med.* *46*: 163-172 (1974).
- 107 Herbert, V.: The megaloblastic anemias. 1st ed., pp. 82-85 (Girune & Stratton, New York 1959).
- 108 Magnus, E.: Serum vitamin B₁₂ values in relation to functional B₁₂ deficiency. *Scand. J. Gastroent.* *9*: suppl. 29, pp. 47-51 (1974).
- 109 Banerjee, D.K.; Chatterjee, J.B.: Vitamin B₁₂ content of some articles of Indian diets and effect of cooking on it. *Br. J. Nutr.* *385-389* (1953).