

Diagnostik af vitamin B₁₂-mangel – tid til eftertanke

Anne-Mette Hvas, Jørgen Ellegaard† & Ebba Nexø

Resumé

Siden plasma P-methylmalonat (MMA) blev indført i 1992 er både denne analyse og P-cobalaminer blevet anvendt i stigende omfang, og i samme periode er forbruget af vitamin B₁₂-præparater mere end fordoblet. Der er imidlertid store regionale forskelle i forbruget af både MMA og P-cobalaminer og af vitamin B₁₂-præparater. Der er således ikke enighed om indikation for eller fortolkning af analyserne. Stort set alle patienter med klinisk åbenbar vitamin B₁₂-mangel vil have nedsatte P-cobalaminer og forhøjet MMA. Derimod er specificiteten af analyserne problematisk, eksempelvis tyder nyere studier på, at langt fra alle med forhøjet MMA har – eller vil få – klinisk betydende vitamin B₁₂-mangel. På baggrund af vores nuværende viden anbefaler vi, at P-cobalaminer anvendes som indledende analyse. Såfremt P-cobalaminer er i gråzonen (125-250 pmol/l), kan der suppleres med MMA. Hvis MMA ligeledes er i gråzonen (0,29-0,75 mmol/l), anbefaler vi, at patienten genundersøges efter ca. et år.

Klassisk vitamin B₁₂-mangel med megaloblastær anæmi, glossitis og/eller neuropsykiatriske manifestationer giver som oftest ikke diagnostiske problemer. Vanskeligere forholder det sig, når vitamin B₁₂-mangel skal diagnosticeres hos personer – hyppigst ældre mennesker – der alene viser vage og ukarakteristiske neuropsykiatriske tegn på sygdom.

Måling af vitamin B₁₂ i plasma (P-cobalaminer) var længe den vigtigste analyse i den primære udredning for vitamin B₁₂-mangel, men for ti år siden blev analysen P-methylmalonat (MMA) introduceret i Danmark. Man regnede med, at MMA måske helt kunne erstatte analysen P-cobalaminer. Det er gået anderledes, og i dag er der fortsat usikkerhed om, hvordan man bedst anvender MMA.

Vi vil i denne oversigt belyse udviklingen i forbruget af MMA- og P-cobalaminer samt forbruget af vitamin B₁₂-præparater i Danmark. På baggrund af en systematisk litteraturregning diskuteres dernæst evidensen for den kliniske anvendelse af MMA, og slutteligt giver vi vores bud på rekommandationer vedrørende anvendelse af P-cobalaminer og MMA ved formodning om vitamin B₁₂-mangel. Vi vil alene beskæftige os med den indledende diagnostik af vitamin B₁₂-mangel og vil i dette arbejde ikke diskutere den videre årsagsudredning og behandling af patienter, hvor vitamin B₁₂-mangel er påvist.

De klinisk biokemiske analyser

I dag anvendes navnlig analyserne P-cobalaminer og MMA, men måling af P-homocystein kan også være af interesse.

P-cobalaminer har siden 1950'erne været anvendt som indikator for vitamin B₁₂-mangel, men analysen er ikke uden problemer. For det første måler man både det vitamin B₁₂, der er umiddelbart tilgængeligt for kroppens celler (det transcobalaminbundne vitamin B₁₂), og det cellerne ikke kan optage (det haptocorrinbundne vitamin B₁₂). For det andet er det vanskeligt at standardisere analysen, hvilket betyder, at referenceintervallet er metodeafhængigt. Endelig har man i flere arbejder vist, at den nosografiske sensitivitet ikke er så god, som man kunne ønske sig, når referenceintervallets nedre grænse anvendes som beslutningsgrænse, hvorimod den nosografiske specificitet udgør et mindre problem [1, 2].

Analysen udføres på alle større laboratorier og er forholdsvis billig.

MMA er ud fra et teoretisk synspunkt en indlysende marker for vitamin B₁₂-mangel. Vitamin B₁₂ fungerer som koenzym for methylmalonyl-CoA-mutase, og hvis vitaminet mangler, ophobes MMA. I 1980'erne blev der udviklet valide metoder til måling af methylmalonat i plasma [3, 4], og siden 1992 har MMA kunnet anvendes som rutineprøve i Danmark. Det skete på grundlag af studier, hvor man fastlagde koncentrationen af MMA hos raske personer [5] og hos patienter med forskellige sygdomme [6], og det nugældende referenceinterval blev fastsat til 0,08-0,28 µmol/l [7].

Den diagnostiske brug af MMA er kompliceret af, at niveauet i plasma påvirkes af andet end vitamin B₁₂-status [6]. Det væsentligste forhold er, at nedsat nyrefunktion medfører en stigning i MMA [3, 8].

MMA udføres kun få steder i landet, og analyseprisen er forholdsvis høj.

P-homocystein stiger hos patienter med vitamin B₁₂-mangel, da vitamin B₁₂ også fungerer som koenzym ved omdannelsen af homocystein til metionin. Måling af P-homocystein kan derfor betragtes som et alternativ til måling af MMA, men der er en række problemer forbundet med dette, først og fremmest betinget af at P-homocystein også stiger hos patienter, der mangler folinsyre eller vitamin B₆ [6]. P-homocystein har i dag ikke nogen entydig rolle i diagnostikken af vitamin B₁₂-mangel og vil ikke blive yderligere omtalt i det følgende.

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

Forbruget af MMA, P-cobalaminer og vitamin B₁₂-præparater i Danmark

Antallet af rekvirerede MMA-analyser steg eksponentielt i de første år efter indførelsen af analysen, og sideløbende hermed sås bemærkelsesværdigt nok en stigning i forbruget af P-cobalaminer (Fig. 1). På tværs af amterne er der store variationer især i forbruget af MMA (Fig. 2, Fig. 3). Der kan være flere årsager til denne variation, herunder prispolitik og det faktum, at metoden er udviklet på Århus Universitetshospital. Læger, som arbejder tæt på dette forskningsmiljø, er mere tilbøjelige til at anvende MMA end læger i andre amter.

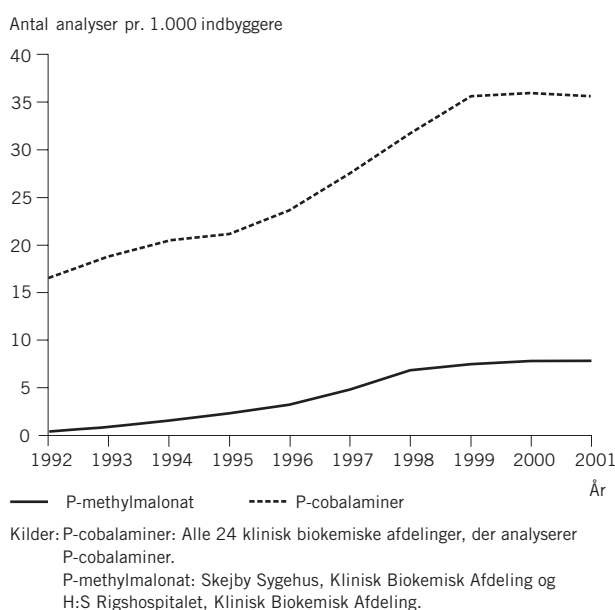


Fig. 1. P-cobalamin- og P-methylmalonat-analyser pr. 1.000 indbyggere i Danmark, 1992-2001.

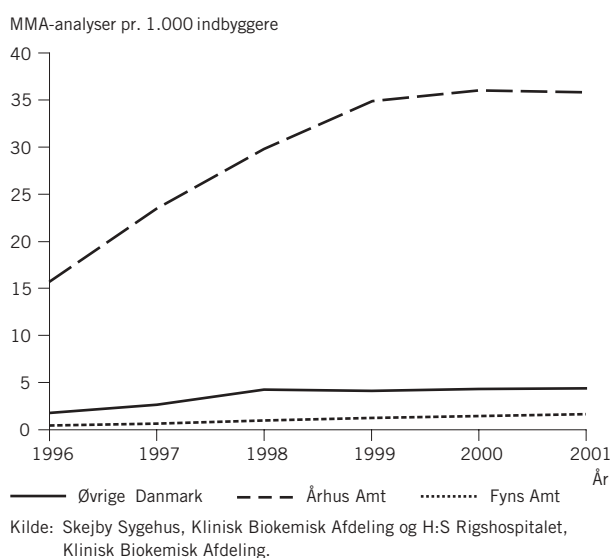


Fig. 2. P-methylmalonat-analyser pr. 1.000 indbyggere i Danmark, Århus Amt og Fyns Amt, 1996-2000.

Siden MMA-analysen blev indført, er omsætningen af vitamin B₁₂-præparater i Danmark mere end fordoblet. Det skyldes imidlertid ikke alene, at amter med et højt forbrug af MMA-analyser har øget deres vitamin B₁₂-forbrug, idet amter, som rekvirerer mange P-cobalaminanalyser, ligeledes har et stort forbrug af vitamin B₁₂-præparater (Fig. 3). Stigningen i forbruget af vitamin B₁₂-præparater må derfor snarere forklares med, at indførelsen af MMA-analysen har skabt en øget opmærksomhed omkring vitamin B₁₂-mangel, sådan som det også afspejler sig i det øgede forbrug af cobalaminanalysen (Fig. 1).

Forbruget af vitamin B₁₂-præparater varierer med næsten en faktor tre mellem de forskellige amter. Denne store forskel kan næppe forklares ved regionale forskelle i forekomsten af vitamin B₁₂-mangel, men må snarere forklares med en manglende faglig konsensus omkring diagnostik og behandling af denne tilstand.

Fra sygdom til biokemisk tilstand

MMA-analysen har gjort det muligt at påvise biokemisk tegn på en præklinisk vitamin B₁₂-mangel-tilstand (forhøjet MMA). Det vil sige en biokemisk tilstand, der også kan ses hos en person, der ikke har anæmi eller andre kliniske tegn på vitamin B₁₂-mangel [9]. Prævalensen af forhøjet MMA er op til 15% af ældrebefolkningen, afhængig af studiepopulation og de valgte grænseværdier for MMA [10-12]. Men det er diskutabelt, hvorvidt så stor en del af ældrebefolkningen vil have gavn af vitamin B₁₂-behandling.

Selv om alle med klinisk åbenbar vitamin B₁₂-mangel på et tidspunkt må have haft en præklinisk tilstand, er det uvist hvor mange med forhøjet MMA, der vil blive syge. Et nyere studie tyder på, at et forhøjet MMA fluktuerer og ofte reverserer i løbet af et til fire år [13]. På baggrund af dette studie må man konkludere, at et forhøjet MMA ikke altid stiger yderligere, men at det ofte normaliseres, uden at patienten tilføres ekstra vitamin B₁₂. I studiet sættes der derfor spørgsmålstegn ved det tidligere anførte synspunkt, at et forhøjet MMA, der falder efter indgift af vitamin B₁₂, kan anvendes som diagnostisk test for vitamin B₁₂-mangel [1, 3, 12, 14].

Behandlingseffekt hos patienter med biokemiske tegn på vitamin B₁₂-mangel

Patienter med åbenbare kliniske tegn på vitamin B₁₂-mangel, eksempelvis megaloblastær anæmi, skal naturligvis sættes i livslang vitamin B₁₂-behandling. Det aktuelle spørgsmål er, om patienter med ukarakteristiske kliniske tegn kombineret med forhøjet MMA og/eller lave P-cobalaminer får det bedre, hvis de behandles med vitamin B₁₂.

Vi har søgt at belyse dette spørgsmål ved en systematisk gennemgang af litteraturen. Vi anvendte databaserne MEDLINE, Embase og Current Contents dels med søgeordet *methylmalonic acid* og dels med kombinationen *vitamin B₁₂ deficiency AND clinical trials*. I søgningen for *methylmalonic*

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

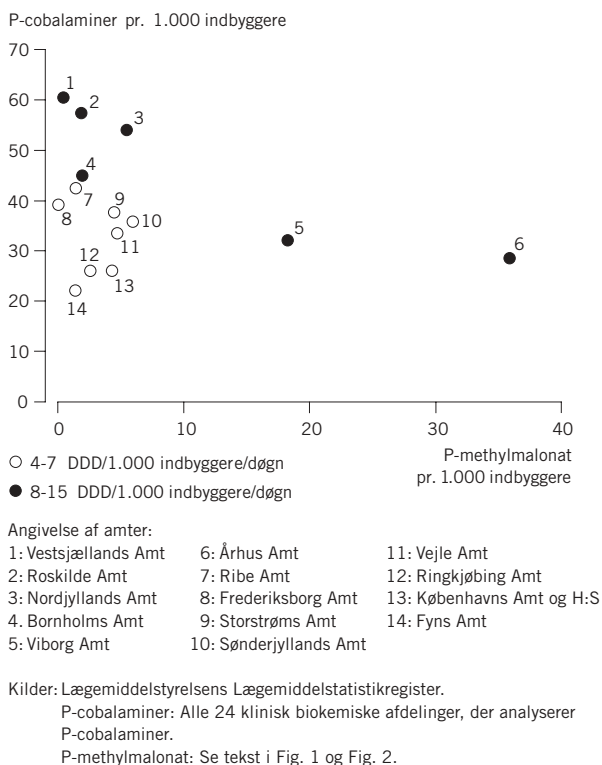


Fig. 3. Sammenhængen mellem antallet af rekvirerede P-cobalaminer og P-methylmalonat pr. 1.000 indbyggere i 2000, og fordelingen af forbruget af vitamin B₁₂-præparater angivet som definerede døgnosler/1.000 indbyggere/døgn, fordelt på amter.

acid inkluderede vi kun studier vedrørende methylmalonat i plasma hos voksne, hvorimod arbejder vedrørende dyr og børn samt methylmalonat i cerebrospinalvæske og urin blev ekskluderet. Søgningerne vedrørende *methylmalonic acid* omfattede årene 1986-2001, da MMA blev kommercielt tilgængelig i 1986 i USA. Titler og abstrakter til studier, der blev fundet ved søgningen i de elektroniske databaser, blev brugt til at afgøre, hvorvidt arbejdet var relevant i denne sammenhæng.

Vi har valgt at lægge hovedvægten på de neuropsykiatriske manifestationer, fordi flere studier tyder på, at disse manifestationer – i modsætning til de hæmatologiske – kan blive irreversible, såfremt de behandles for sent [15, 16]. Derudover diskuterer vi sammenhængen mellem vitamin B₁₂-mangel og udvikling af demens, fordi man i nogle studier har fundet en høj prævalens af lave P-cobalaminer hos patienter med Alzheimers demens [17-19].

Vurderingen af MMA som erstatning for eller som supplement til P-cobalaminer er hovedsageligt foretaget på baggrund af studiepopulationer med lave eller lav-normale P-cobalaminer. Samtlige studier viser, at de to analyser er tæt korrelerede, når P-cobalaminer er lave, det vil sige, at de fleste med meget lave P-cobalaminer har høj MMA.

I adskillige studier har man vist, at vitamin B₁₂-behandling

medfører normalisering af MMA [1, 10, 17, 20-23], men der er kun gennemført to randomiserede studier, som også havde kliniske effektmål [21, 23]. I studiet af *Kwok et al* fokuserede man på bedring i kognitiv funktion, men fandt ingen bedring i behandlingsgruppen i forhold til i kontrolgruppen [23]. I det eneste randomiserede studie, hvor man har taget udgangspunkt i undersøgelse af patienter med moderat forhøjet MMA (0,40-2,00 µmol/l), fandtes ingen eller yderst begrænset klinisk bedring [21]. Begge randomiserede studier begrænsede sig til en interventionstid på 3-4 måneder, og det kan derfor ikke afvises, at patienterne på længere sigt kunne have haft glæde af behandlingen.

I tidligere ikkekontrollerede kliniske undersøgelser af patienter med nedsatte P-cobalaminer er der beskrevet en klinisk effekt af vitamin B₁₂-behandling registreret som bedring primært i neurologiske symptomer og objektive fund [1, 10, 15, 22, 24, 25]. Derudover fandtes der i to studier bedring hos patienter med let demens af under to års varighed [16, 26], hvorimod andre ikke har kunnet påvise bedring i kognitiv funktion efter behandling med vitamin B₁₂ [17, 27, 28]. *Carmel* fandt, at der var en sammenhæng mellem forhøjet MMA og forekomsten af neurologiske udfald [22], og i andre studier fandt man forhøjet MMA hos hovedparten af de patienter, der havde et positivt behandlingsrespons [1, 24].

Nogle af disse ikkekontrollerede studier var kendetegnet ved, at patientgrundlaget var lille [10, 16, 22, 26]. Andre studier var retrospektive, og bedømmelsen af den kliniske effekt beroede på journaloplysninger [1, 15], det vil sige optegnelser fra en situation, hvor både læge og patient har haft en forventning om klinisk bedring efter påbegyndt behandling. Endelig beroede to af studierne på mangelfuldt klinisk materiale, idet en væsentlig del af resultaterne var baseret på de oplysninger og blodprøver, der nu engang var til rådighed [24, 25].

De væsentligste kliniske studier, hvori MMA indgår og evalueres, er opsummeret i **Tablet 1**. Det randomiserede studie, der inkluderede patienterne på baggrund af forhøjet MMA [21], støtter ikke en strategi, hvor MMA anvendes som den første test. Hovedparten af de øvrige kliniske studier, hvori MMA evalueres, har haft et svagt design, og de fleste er baseret på få patienter. De samlede resultater peger dog på

Fire nøglesætninger

- Forbruget af P-methylmalonat, P-cobalaminer og vitamin B₁₂-præparater er steget stødt gennem de seneste ti år men med store regionale forskelle.
- Der er i dag ingen konsensus om anvendelsen af analyserne.
- Det er fortsat usikkert, hvornår der er indikation for vitamin B₁₂-behandling.
- Ved formodning om vitamin B₁₂-mangel anvender man P-cobalaminer som primær analyse og supplerer med P-methylmalonat, hvis P-cobalaminer er i gråzoneområdet.

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

Table 1. Oversigt over udvalgte studier, hvor både P-methylmalonat og P-cobalaminer er analyseret, og den kliniske effekt af vitamin B₁₂-behandling er evalueret.

Evidensniveau Ib						
Forfatter	Population	Inkluderet/ gennemført	Design og intervention	Kliniske effektmål	Artiklens forfattere konkluderer	Kommentarer
<i>Kwok T,</i> 1998 [23]	Ikke-hospitaliserede Ingen anæmi Over 60 år Cbl ^a <120 pmol/l	50/48	Randomiseret til vitamin B ₁₂ -behandling eller ingen intervention Følgt op efter 4 mdr.	Flere neuro-psykologiske test	Vitamin B ₁₂ -behandling medførte ikke bedring i kognitiv funktion blandt personer med lav Cbl	Arbejdet viser, at selv om hovedparten af patienterne havde MMA ^a >0,40 mmol/l, fandtes ingen gevinst af vitamin B ₁₂ -behandlingen
<i>Hvas et al,</i> 2001 [21]	Ikke-hospitaliserede MMA 0,40-2,0 µmol/l (0,08-0,28 µmol/l) ^b	140/134	Randomiseret til vitamin B ₁₂ - eller placebobehandling Undersøger og deltagere blindet for intervention og biokemiske data Følgt op efter 3 mdr.	Anamnese vedr. hæmatologiske, neurologiske og gastroenterologiske symptomer Standard neurologisk undersøgelse Biothesiometri	Tvivlsom klinisk effekt af vitamin B ₁₂ -behandling blandt personer med moderat forhøjet MMA	Arbejdet er det eneste, der inkluderer patienter alene på baggrund af forhøjet MMA
Evidensniveau III						
<i>Lindenbaum et al,</i> 1988 [1]	Neuropsykiatriske abnorma- liteter Ingen anæmi eller makrocytose Cbl <110 pmol/l ^c (150-660 pmol/l) ^c	40/39	Kohorteundersøgelse Alle vitamin B ₁₂ -behandlet Ingen kontrolgruppe Følgt op efter 2 år	Anamnese vedr. neurologiske symptomer Standard neurologisk undersøgelse	MMA og HCY ^a , der normaliseres efter behandling, bekræfter vitamin B ₁₂ -mangel i tilfælde af tvetydige kliniske tegn	Man kan ikke ud fra et studie med dette design slutte, at det er klinisk relevant at anvende MMA som funktionstest
<i>Stabler et al,</i> 1990 ^{bd} [24]	Konsekutive ambulante og indlagte patienter med Cbl <150 pmol/l ^c (150-660 pmol/l) ^c	300/145	Kohorteundersøgelse Alle vitamin B ₁₂ -behandlet Ingen kontrolgruppe Følgt op efter mindst 4 mdr.	Standard neurologisk undersøgelse	Neuropsykiatrisk abnormalitet ses ofte uden samtidig anæmi eller makrocytose MMA og/eller HCY er relevante som supplerende test med henblik på at diagnosticere vitamin B ₁₂ -mangel og som prædikator for, hvem der vil have gevinst af behandling	Arbejdet peger på anvendelsen af MMA som supplerende test hos patienter med lav eller lav-normal Cbl
<i>Pennypacker et al,</i> 1992 [10]	Ambulate patienter 65-99 år Cbl ≤220 pmol/l ^c (150-590 pmol/l) ^c	38/29	Kohorteundersøgelse Alle vitamin B ₁₂ -behandlet Ingen kontrolgruppe Undersøger blindet for biokemiske data Følgt op efter 6-8 uger og igen efter 6 mdr.	Standard neurologisk undersøgelse Flere neuro-psykologiske test	Tvivlsom klinisk effekt af vitamin B ₁₂ -behandling Afklaring kræver større studier	Ingen forskel i behandlingsrespons hos patienter med MMA henholdsvis over eller under 0,38 µmol/l
<i>Kristensen et al,</i> 1993 [17]	Subpopulation med Alzheimers demens MMA >0,90 µmol/l (0,05-0,37 µmol/l)	5/5	Kohorteundersøgelse Alle vitamin B ₁₂ -behandlet Ingen kontrolgruppe Følgt op efter 1-2 mdr.	Standard neurologisk undersøgelse Mini-Mental State Examination	Yderligere studier nødvendige	Karakter af caseundersøgelse

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

Tabel 1. Fortsat.

Evidensniveau III						
Forfatter	Population	Inkluderet/ gennemført	Design og intervention	Kliniske effektmål	Artiklens forfattere konkluderer	Kommentarer
Savage et al, 1994 ^d [25]	219 patienter, der i 1982-1989 havde fået påvist Cbl <150 pmol/l ^c og frosne sera fra 187 patienter, der i 1968-1981 havde fået målt Cbl <150 pmol/l ^c	406	Journalgennemgang af cases	Ingen	MMA er en sensitiv test med henblik på diagnostik af vitamin B ₁₂ -mangel Normal MMA udelukker med stor sikkerhed vitamin B ₁₂ -mangel	Arbejdet peger på anvendelsen af MMA som supplerende test hos patienter med lav eller lav-normal Cbl
Carmel R, 1995 [22]	Ambulante patienter 13 demente, 3 ikkedemente Cbl <140 pmol/l ^c (140-750 pmol/l) ^c	16/16	Kohorteundersøgelse Alle vitamin B ₁₂ -behandlet Ingen kontrolgruppe Undersøger blindet for biokemiske data Følgt op efter 6-8 mdr.	Standard neurologisk undersøgelse Elektrofysiologiske undersøgelser Flere neuropsykologiske test	Neurologiske abnormaliteter ses ofte ved mild vitamin B ₁₂ -mangel Vitamin B ₁₂ -behandlingen har nogen effekt på neurologiske deficits Lidet sandsynligt at vitamin B ₁₂ -behandling kan bedre etableret demens	Arbejdet peger på den mulige værdi af MMA som supplerende test hos patienter med lav eller lav-normal Cbl

- a) Cbl = Serum-cobalaminer; MMA = P-methylmalonat; HCY = P-homocystein.
- b) I arbejder, hvor referenceintervallet på P-cobalaminer og P-methylmalonat er oplyst, er dette anført i parentes.
- c) Enhederne for P-cobalaminer er alle omregnet til pmol/l ved brug af cyanocobalamins molekylvægt (1.355).
- d) Der er overlap mellem studiepopulationerne i dette arbejde og i Lindenbaum et al (1).

MMA som en mulig supplerende test hos patienter med P-cobalaminer lavt i referenceintervallet og herefter.

Sammenfattende understreger litteraturgennemgangen, at vores viden om den kliniske nytte af at behandle patienter med biokemisk tegn og ukarakteristiske kliniske tegn på vitamin B₁₂-mangel er yderst begrænset.

Konklusion

Klarhed over, hvem der formodes at lide af vitamin B₁₂-mangel, og hvilke analyser der bør anvendes ved udredning for vitamin B₁₂-mangel, kan først forventes, når man ved, hvornår en patient med vage kliniske tegn og nedsatte P-cobalaminer eller øget MMA har gavn af vitamin B₁₂-behandling. Skal dette belyses yderligere, må der gennemføres randomiserede, placebokontrollerede interventionsstudier af længere varighed.

På nuværende tidspunkt anbefaler vi, at man formoder, at patienter med uafklaret anæmi, uafklarede neuropsykiatriske symptomer og/eller gastrointestinal sygdom kan have vitamin B₁₂-mangel. På grund af MMA's tvivlsomme specificitet finder vi ikke, at der er grundlag for at screene dele af befolkningen med denne analyse.

I overensstemmelse med norske kolleger [29] anbefaler vi, at P-cobalaminer anvendes som primær analyse. Såfremt P-cobalaminer er i gråzonen, kan der suppleres med MMA. Gråzonen må fastsættes af det enkelte laboratorium på bag-

grund af referenceintervallet for den analyse, man lokalt anvender til måling af P-cobalaminer. Vi anvender en gråzone på 125-250 pmol/l i forbindelse med en metode, der har et referenceinterval på 200-600 pmol/l. For patienter, hvor P-cobalaminer er i gråzonen, anbefaler vi, at formodningen om vitamin B₁₂-mangel opretholdes, hvis MMA er over 0,75

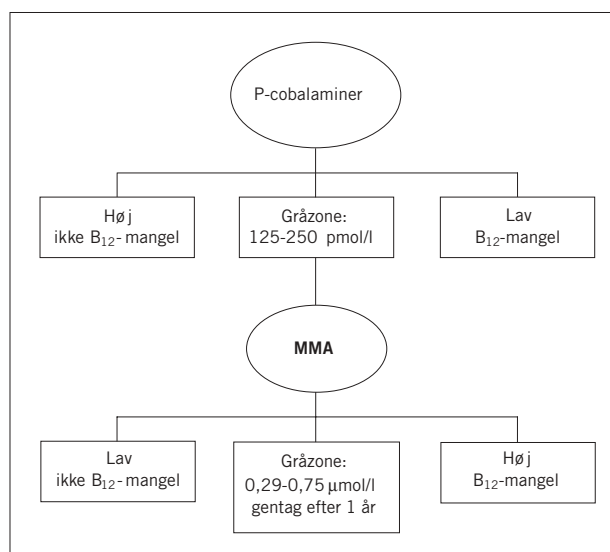


Fig. 4. Anbefaling vedrørende indledende laboratorieprøver ved udredning for vitamin B₁₂-mangel.

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

$\mu\text{mol/l}$, og at formodningen frafaldes, hvis MMA er under $0,29 \mu\text{mol/l}$. Såfremt MMA også ligger i gråzonen ($0,29-0,75 \mu\text{mol/l}$), anbefaler vi, at patienten genundersøges efter ca. et år. Vores anbefalinger er opsummeret i **Fig. 4**.

Summary

Anne-Mette Hvas, Jørgen Ellegaard† & Ebba Nexø:

Diagnostics of vitamin B-12 – time for reflection.

Ugeskr Læger 2003;165:1971-6.

Since plasma methylmalonic acid (MMA) was introduced in Denmark in 1992 both MMA and P-cobalamins have been increasingly employed to diagnose vitamin B-12 deficiency, and the consumption of vitamin B-12 has been almost doubled during the same period. The controversy about diagnosing vitamin B-12 deficiency is reflected in a huge geographical variation both in requisition of MMA and P-cobalamins and in the vitamin B-12 consumption. On the basis of studies performed so far we conclude that MMA is a reliable method with a good nosographic sensitivity. However, the nosographic specificity is sparsely examined, and the evidence to use MMA as a primary test for diagnosing vitamin B-12 deficiency is still insufficient. We recommend P-cobalamins as the first line test, and if P-cobalamins are in the grey area $125-250 \text{ pmol/l}$ we recommend supplementation with MMA. For patients who also have an MMA in the grey area ($0.29-0.75 \mu\text{mol/l}$) we recommend that the patient is re-examined after about a year.

Reprints: *Anne-Mette Hvas*, Klinisk Biokemisk Afdeling, Århus Kommune-hospital, DK-8000 Århus C. E-mail: am.hvas@dadlnet.dk

Antaget den 17. januar 2003.

Århus Universitetshospital, Århus Kommunehospital, Klinisk Biokemisk Afdeling, og
Århus Universitetshospital, Århus Amtssygehus, Hæmatologisk Afdeling.

Litteratur

- Lindenbaum J, Healton EB, Savage DG et al. Neuropsychiatric disorders caused by cobalamin deficiency in the absence of anemia or macrocytosis. *N Engl J Med* 1988;318:1720-8.
- Brynskov J, Andersen K, Gimsing P et al. False low serum vitamin B-12 values with radiodilution assays using blocked R-binders. *Lancet* 1983;1:1104-5.
- Stabler SP, Marcell PD, Podell ER et al. Assay of methylmalonic acid in the serum of patients with cobalamin deficiency using capillary gas chromatography-mass spectrometry. *J Clin Invest* 1986;77:1606-12.
- Rasmussen K. Solid-phase sample extraction for rapid determination of methylmalonic acid in serum and urine by a stable-isotope-dilution method. *Clin Chem* 1989;35:260-4.
- Rasmussen K, Møller J, Ostergaard K et al. Methylmalonic acid concentrations in serum of normal subjects: biological variability and effect of oral L-isoleucine loads before and after intramuscular administration of cobalamin. *Clin Chem* 1990;36:1295-9.
- Rasmussen K. P-methylmalonat og P-homocystein: metaboliske markører for vitaminmangel. *Ugeskr Læger* 1996;158:3913-8.
- Rasmussen K, Møller J, Lyngbak M et al. Age- and gender-specific reference intervals for total homocysteine and methylmalonic acid in plasma before and after vitamin supplementation. *Clin Chem* 1996;42:630-6.
- Rasmussen K, Vyberg B, Pedersen KO et al. Methylmalonic acid in renal insufficiency: evidence of accumulation and implications for diagnosis of cobalamin deficiency. *Clin Chem* 1990;36:1523-4.
- Carmel R. Current concepts in cobalamin deficiency. *Annu Rev Med* 2000;51:357-75.
- Pennypacker LC, Allen RH, Kelly JP et al. High prevalence of cobalamin deficiency in elderly outpatients. *J Am Geriatr Soc* 1992;40:1197-204.
- Joosten E, van den Berg A, Riezler R et al. Metabolic evidence that deficiencies of vitamin B-12 (cobalamin), folate, and vitamin B-6 occur commonly in elderly people. *Am J Clin Nutr* 1993;58:468-76.
- Naurath HJ, Joosten E, Riezler R et al. Effects of vitamin B12, folate, and vitamin B6 supplements in elderly people with normal serum vitamin concentrations. *Lancet* 1995;346:85-9.
- Hvas AM, Ellegaard J, Nexø E. Increased plasma methylmalonic acid does not predict clinical manifestations of vitamin B-12 deficiency. *Arch Intern Med* 2001;161:1534-41.
- Nexø E, Hansen M, Rasmussen K et al. How to diagnose cobalamin deficiency. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 1994;219:61-76.
- Healton EB, Savage DG, Brust JC et al. Neurologic aspects of cobalamin deficiency. *Medicine (Baltimore)* 1991;70:229-45.
- Martin DC, Francis J, Protetch J et al. Time dependency of cognitive recovery with cobalamin replacement: report of a pilot study. *J Am Geriatr Soc* 1992;40:168-72.
- Kristensen MO, Gulmann NC, Christensen JE et al. Serum cobalamin and methylmalonic acid in Alzheimer dementia. *Acta Neurol Scand* 1993;87:475-81.
- Clarke R, Smith AD, Jobst KA et al. Folate, vitamin B12, and serum total homocysteine levels in confirmed Alzheimer disease. *Arch Neurol* 1998;55:1449-55.
- Levitt AJ, Karlinsky H. Folate, vitamin B12 and cognitive impairment in patients with Alzheimer's disease. *Acta Psychiatr Scand* 1992;86:301-5.
- Lindenbaum J, Savage DG, Stabler SP et al. Diagnosis of cobalamin deficiency: II. *Am J Hematol* 1990;34:99-107.
- Hvas AM, Ellegaard J, Nexø E. Vitamin B-12 treatment normalizes metabolic markers but has limited clinical effect: a randomized placebo-controlled study. *Clin Chem* 2001;47:1396-404.
- Carmel R, Gott PS, Waters CH et al. The frequently low cobalamin levels in dementia usually signify treatable metabolic, neurologic and electrophysiologic abnormalities. *Eur J Haematol* 1995;54:245-53.
- Kwok T, Tang C, Woo J et al. Randomized trial of the effect of supplementation on the cognitive function of older people with subnormal cobalamin levels. *Int J Geriatr Psychiatry* 1998;13:611-6.
- Stabler SP, Allen RH, Savage DG et al. Clinical spectrum and diagnosis of cobalamin deficiency. *Blood* 1990;76:871-81.
- Savage DG, Lindenbaum J, Stabler SP et al. Sensitivity of serum methylmalonic acid and total homocysteine determinations for diagnosing cobalamin and folate deficiencies. *Am J Med* 1994;96:239-46.
- Cunha UG, Rocha FL, Peixoto JM et al. Vitamin B12 deficiency and dementia. *Int Psychogeriatr* 1995;7:85-8.
- Teunisse S, Bollen AE, van Gool WA et al. Dementia and subnormal levels of vitamin B12: effects of replacement therapy on dementia. *J Neurol* 1996;243:522-9.
- Eastley R, Wilcock GK, Bucks RS. Vitamin B12 deficiency in dementia and cognitive impairment: the effects of treatment on neuropsychological function. *Int J Geriatr Psychiatry* 2000;15:226-33.
- Hølleland G, Schneede J, Ueland PM et al. Cobalamin deficiency in general practice. *Clin Chem* 1999;5:189-98.