

PŮVODNÍ PRÁCE

Deficit vitaminu B₁₂ – další výzva k rozšíření novorozeneckého laboratorního screeningu?*Vitamin B₁₂ deficiency – another challenge to expand newborn laboratory screening?*

Samuel Stanovský¹, Josef Bártl¹, Kristýna Barvíková¹, Petr Chrastina¹, Jakub Krijt¹, Jitka Sokolová¹, Klára Berková², Zbyněk Straňák², Katarína Tichá³, Jan Janota³, Mária Eliášová⁴, Richard Plavka⁴, Jiří Zach⁵, Viktor Kožich¹, Tomáš Honzík¹

¹Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova a Všeobecná fakultní nemocnice, Praha

²Ústav pro péči o matku a dítě, Praha

³Novorozenecké oddělení, Fakultní nemocnice Motol, Praha

⁴Klinika gynekologie, porodnictví a neonatologie, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova a Všeobecná fakultní nemocnice, Praha

⁵Novorozenecké oddělení, Fakultní Thomayerova nemocnice, Praha

SOUHRN

Stanovský S, Bártl J, Barvíková K, Chrastina P, Krijt J, Sokolová J, Berková K, Straňák Z, Tichá K, Janota J, Eliášová M, Plavka R, Zach J, Kožich V, Honzík T. Deficit vitaminu B₁₂ – další výzva k rozšíření novorozeneckého laboratorního screeningu?

Úvod: Deficit kobalaminu (Cbl, B₁₂) se projevuje v kojeneckém věku neprospíváním, makrocytární anemií, hypotonií, opožděním/regresem vývoje, mikrocefalií a epilepsií. Jednou z příčin deficitu B₁₂ u novorozenců je in utero získaný deficit maternálního původu. Po vzoru jiných zemí EU představujeme průběžné výsledky pilotního projektu novorozeneckého laboratorního screeningu (NLS) deficitu Cbl probíhajícího na spolupracujících pražských pracovištích.

Metody: Pro podezření na deficit B₁₂ stačí odchylka alespoň 1 primárního markeru: propionylkarnitin > 3,8 μmol/l, poměr propionylkarnitin/acetylarnitin > 0,3, methionin < 7 μmol/l, poměr propionylkarnitin/methionin > 0,5 (stanoveno tandemovou hmotnostní spektrometrií). Jako druhostupňové markery využíváme kyselinu methylmalonovou (MMA) > 2,5 μmol/l a celkový homocystein (tHcy) > 12 μmol/l. U pozitivních nálezů provádíme u novorozence i matky test vstřebávání Cbl a stanovujeme celkový B₁₂ (stanoveno elektrochemiluminiscenční imunoanalýzou), holoTC (stanoveno chemiluminiscenční imunoanalýzou), foláty (stanoveno elektrochemiluminiscenční imunoanalýzou), sérovou MMA (stanoveno kapalinovou chromatografií s tandemovou hmotnostní spektrometrií), tHcy (stanoveno vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií) a vybrané sírné metabolity. U matek dále stanovujeme markery chronické gastritidy.

Výsledky: K 21. 02. 2024 byl deficit B₁₂ vyšetřen v 20 419 krevních kapkách (86,1% z celkového počtu odebraných vzorků). 863 novorozenců mělo pozitivní alespoň 1 z prvostupňových markerů (2nd tier 4,2 %). Celkově jsme zachytili 6 novorozenců s elevovanými hodnotami MMA, ve 4 případech se jednalo o pravou pozitivitu, 1 případ byl falešně pozitivní, 1 případ byl zachyt kombinované malonové/methylmalonové acidurie. V našich předběžných výsledcích dosahoval neonatální deficit B₁₂ incidenci 1 : 5105 (95% CI 1 : 1994 – 1 : 8735).

Závěr: Předběžná data z naší studie prokazují vysokou incidenci neonatálního deficitu B₁₂ ve spolupracujících pražských porodnicích. Výsledky mohou sloužit jako vědecký podklad k rozšíření NLS v České republice.

Klíčová slova: novorozenecký screening, kobalamin, vitamin B₁₂, deficit B₁₂

SUMMARY

Stanovský S, Bártl J, Barvíková K, Chrastina P, Krijt J, Sokolová J, Berková K, Straňák Z, Tichá K, Janota J, Eliášová M, Plavka R, Zach J, Kožich V, Honzík T. Vitamin B₁₂ deficiency – another challenge to expand newborn laboratory screening?

Introduction: Cobalamin (Cbl, B₁₂) deficiency manifests in infancy as failure to thrive, macrocytic anemia, hypotonia, developmental delay/regression, microcephaly, and epilepsy. One of the causes of B₁₂ deficiency in newborns is in-utero acquired deficiency caused by maternal deficiency. Following the example of other EU countries, we present interim data from a pilot project of newborn laboratory screening (NLS) for Cbl deficiency, which has been conducted at cooperating Prague hospitals.

Methods: At least one abnormal primary marker is required for suspected B₁₂ deficiency: propionylcarnitine > 3.8 μmol/l, propionylcarnitine/acetylarnitine ratio > 0.3, methionine < 7 μmol/l, propionylcarnitine/methionine ratio > 0.5 (determined by tandem mass spectrometry). Secondary markers include methylmalonic acid (MMA) > 2.5 μmol/l and total homocysteine (tHcy) > 12 μmol/l. In the case of NLS positivity, both the newborn and the mother undergo a Cbl absorption test. We determine total B₁₂ (measured by electrochemiluminescence immunoassay), holoTC (measured by chemiluminescence immunoassay), folates (measured by electrochemiluminescence immunoassay), serum MMA

Práce vznikla s podporou grantového projektu AZV NU22-07-00126, RVO-VFN64165 a programu Cooperatio, vědní oblasti „Pediatrie“ a „Metabolické a endokrinní nemoci“.

(measured by liquid chromatography-tandem mass spectrometry), tHcy (measured by high-performance liquid chromatography), and selected sulfur metabolites in both newborn and mother. We assess maternal markers of chronic gastritis.

Results: As of 21 February 2024, we evaluated B₁₂ deficiency in 20,419 dry blood spots (86.1% of the samples collected). We identified 863 newborns with positive findings for at least one of the primary markers (2nd tier 4.2%). Overall, 6 newborns had elevated MMA levels, with 4 cases classified as true positivity, 1 false positivity, and 1 case indicating combined malonic/methylmalonic aciduria. In our preliminary results, the incidence of neonatal B₁₂ deficiency reached 1 : 5,105 (95% CI 1:1,994-1:8,735).

Conclusion: Preliminary data from our study demonstrate the high incidence of neonatal B₁₂ deficiency in cooperating Prague maternity units. The results may serve as a scientific basis for NLS expansion in the Czech Republic.

Keywords: newborn screening, cobalamin, vitamin B₁₂, B₁₂ deficiency

Korespondenční adresa:

prof. MUDr. Tomáš Honzík, Ph.D.
Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu 1. LF UK
a VFN
Ke Karlovu 455/2
128 08 Praha 2
e-mail: tomas.honzik@vfn.cz

ÚVOD

Vitamin B₁₂, známý i jako kobalamin (B₁₂, Cbl) patří do skupiny vitaminů rozpustných ve vodě. V přirozené stravě se vyskytuje v potravinách živočišného původu jako hovězí maso a játra, ryby, vejce nebo mléčné výrobky.⁽¹⁾ Pro plně kojené děti je výlučným zdrojem B₁₂ mateřské mléko a dále zásoby nashromážděné ještě během intrauterinního vývoje.⁽²⁾ Denní potřeba B₁₂ se pohybuje v rozmezí od 0,4 µg u novorozenců a kojenců, 2,4 µg u adolescentů a dospívajících a 2,6 µg u gravidních a kojících žen.⁽³⁾

Cbl, nazvaný i „nejkrásnější kofaktor v přírodě“, je po chemické stránce nejsložitější známý koenzym.⁽⁴⁾ V intracelulárním prostředí působí jako kofaktor 2 enzymů, které jsou nepostradatelné pro metabolické děje: methylmalonyl-CoA-mutáza a methioninsyntáza.⁽⁵⁾ Ve formě adenosyl-Cbl je kofaktorem methylmalonyl-CoA-mutázy. Jedná se o mitochondriální enzym, který katalyzuje izomerizaci methylmalonyl-CoA na sukcinyl-CoA, jednu z anaplerotických reakcí Krebsova cyklu.⁽⁶⁾ Druhou biochemickou reakcí, ve které se Cbl účastní ve formě methyl-Cbl, je remethylace homocysteinu (Hcy) na methionin (Met) pomocí enzymu methioninsyntázy.⁽⁷⁾ Poruchy v těchto enzymech vedou k závažným metabolickým onemocněním.⁽⁸⁾

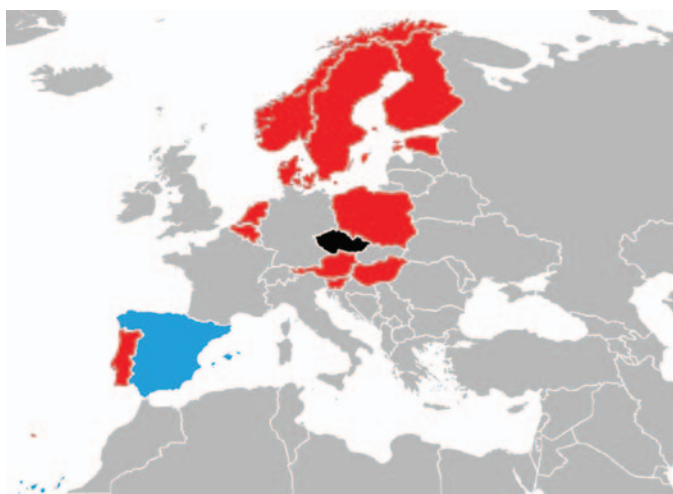
B₁₂ se v krvi vyskytuje vázán na vazebné proteiny: holotranskobalamin (holoTC) a holohaptokorrin (holoHC) (obr. 1).⁽⁹⁾ Biologicky aktivní frakce je pouze holoTC, známý i jako aktivní B₁₂.⁽¹⁰⁾ V biochemické rutinní diagnostice se

uplatňuje stanovení celkového B₁₂ a stanovení holoTC. Dosud neexistuje jednoznačný vědecký konsenzus pro referenční rozmezí jak holoTC, tak celkového B₁₂. V textu uvádíme referenční rozmezí využívané na Klinice pediatrie a dědičných poruch metabolismu 1. LF UK a VFN (KPDPM). Celkový B₁₂ (referenční rozmezí 145–569 pmol/l) zahrnuje obě plasmatické frakce Cbl, jak holoTC, tak holoHC. Vzhledem k tomu, že biologicky aktivní B₁₂ je vázán pouze na holoTC, nejeví se stanovení celkového B₁₂ jako ideální marker pro diagnostiku deficitu B₁₂.^(11,12) HoloTC (referenční rozmezí 30–165 pmol/l), reprezentující biologicky dostupný Cbl pro buňky, se jeví jako optimální marker pro posuzování deficitu B₁₂.⁽¹³⁾ Fyziologicky dochází k poklesu holoTC mezi 4.–6. měsícem života u plně kojených dětí. Mezi specializovaná vyšetření ke stanovení deficitu B₁₂ patří stanovení sérové kyseliny methylmalonové (MMA) a stanovení celkového Hcy (tHcy).⁽¹⁴⁾ MMA je velmi citlivý marker intracelulárního deficitu B₁₂.^(15,16) Fyziologické referenční rozmezí do 1. roku života je < 700 nmol/l, nicméně u plně kojených dětí dochází k fyziologickému vzestupu mezi 4.–6. měsícem života až k hodnotám kolem 2000 nmol/l.^(17,18) Po prvním roce života by hodnoty MMA neměly přesáhnout 270 nmol/l. Mezi jiné stavy, které se mohou projevit vzestupem MMA, patří dědičné poruchy transportu a intracelulárního zpracování Cbl nebo chronické onemocnění ledvin.⁽¹⁹⁾ Další funkční marker deficitu B₁₂ je tHcy. Referenční rozmezí ve věkové skupině 0–18 let je 3,5–10 µmol/l, nad 18 let 3,5–15 µmol/l. Nevýhodou oproti MMA



Obr. 1: Pool B₁₂ v krvi

TC – holotranskobalamin, HC – holohaptokorrin



Obr. 2: Červeně jsou vyznačeny země se zavedeným plošným novorozeneckým laboratorním screeningem deficitu B_{12} ; v případě Španělska screening probíhá na části území

je nižší senzitivita a specifická, výhodou častější dostupnost v rutinních laboratořích. Mezi jiné stavy vedoucí k elevaci tHcy patří deficit folátů, chronické onemocnění ledvin, hypotyreóza, farmaka (antiepileptika, antimetabolity folátů).⁽²⁰⁾

Lehký deficit B_{12} (holoTC 16–30 pmol/l) se projevuje nespecifickými příznaky jako zvýšená únava, anémie, neprospívání a nevysvětlitelné opoždění psychomotorického vývoje (PMV). Těžký deficit B_{12} (holoTC < 16 pmol/l) se může projevovat jako letargie, odmítání kojení, zvýšená dráždivost, hypotonie, absence úsměvu, opoždění PMV či jeho regres, neprospívání, poruchy růstu, nízká porodní hmotnost, anémie. Dále mohou být přítomny známky demyelinizace, epilepsie nebo glositida. Častou mylnou představou je, že musí být vyjádřena makrocytární anémie – v naší studii byla přítomna u 28 % kojenců.⁽²¹⁾ Eventuální přítomnost pancytopenie dále může rozšířit dif. dg. Většina klinických příznaků se projevuje v prvních měsících života.^(22–25)

Stavy, které vedou k deficitu Cbl v dětské populaci, jsou výrazně heterogenní. U novorozenců a kojenců převažuje in utero získaný deficit na podkladě nepoznaného deficitu B_{12} u matky – nejčastěji z důvodu nediagnostikované malabsorpce na podkladě chronické gastritidy nebo u matek veganek. Mezi další příčiny patří pozdní zavádění příkrmů nebo dědičné poruchy transportu B_{12} . U starších dětí se jedná o nutriční příčiny (nedostatek masa v potravě), onemocnění gastrointestinálního traktu (celiakie, Crohnova nemoc, stavy po resekci terminálního ilea, pankreatická insuficience, hypo/achlorhydrie) nebo dědičné poruchy transportu B_{12} .^(26,27)

Navzdory tomu, že léčba deficitu B_{12} je jednoduchá a efektivní, dosud neexistují národní nebo mezinárodní doporučení pro léčbu deficitu B_{12} v dětské populaci. Recentně britský National Institute for Health and Care Excellence publikoval doporučení pro léčbu deficitu B_{12} u pacientů starších 16 let.⁽²⁸⁾ Na KPDPM při podezření na deficit B_{12} současně vyšetřujeme matku a dítě. Při vyšetřování matky novorozence

s deficitem B_{12} je potřeba klást důraz na anamnézu stran diety, onemocnění gastrointestinálního traktu a užívaná farmaka. Při podezření na malabsorpci provádíme CobaSorb (neradioaktivní test k posouzení vstřebávání B_{12}) u dítěte i matky. Po ukončení testu a vyloučení malabsorpce zahajujeme terapii magistraliter připraveným B_{12} sirupem 6 µg/ml v dávce 2 ml 1× denně (tj. 12 µg/den) s následnou kontrolou hladin holoTC, celkového B_{12} , MMA a tHcy 3 týdny a 6 týdnů po zahájení léčby. Po 6 týdnech léčby snižujeme dávku na 2 ml 3× týdně a pokračujeme v substituci do normalizace hladin MMA s laboratorním monitorováním jedenkrát za 6 týdnů do zavedení příkrmů či do ukončení kojení a převodu dítěte na umělou mléčnou výživu. Finální kontrola hladin celkového B_{12} , holoTC, MMA a tHcy probíhá v 6. měsíci života. Je nutné zdůraznit, že vždy léčíme i matku ve spolupráci s všeobecným praktickým lékařem nebo internistou (event. gastroenterologem/hematologem).

Vzhledem k potencionálně závažným dopadům na dětský organismus a faktu, že se jedná o lehké a efektivně léčitelné onemocnění, byl deficit B_{12} zařazen jako součást novorozeneckého laboratorního screeningu (NLS) ve 13 evropských zemích (obr. 2). Časná diagnostika in utero získaného deficitu Cbl umožňuje zabránit rozvoji závažného neurologického postižení. Od června 2022 probíhá pilotní studie deficitu B_{12} v porodnicích na území Hlavního města Prahy.

METODY

Pilotní projekt screeningu deficitu B_{12} probíhá od června 2022 ve 4 pražských fakultních nemocnicích: Všeobecná fakultní nemocnice, Fakultní Thomayerova nemocnice, Fakultní nemocnice Motol a Ústav pro péči o matku a dítě. Na spolupracujících pracovištích konsentující rodičky obdrží informovaný souhlas se zapojením do pilotního programu screeningu deficitu B_{12} u novorozenců. Pro zapojení do screeningu není nutný žádný odběr krve navíc, vyšetření se realizuje ze standardní suché krevní kapky. Pro stanovení deficitu B_{12} využíváme následující primární markery: propionylkarnitin (cut-off > 3,8 µmol/l), poměr propionylkarnitin/acetylarnitin (cut-off > 0,3), Met (cut-off < 7 µmol/l), poměr propionylkarnitin/Met (cut-off > 0,5). Pro záchyt stačí jeden pozitivní marker. Jako druhostupňové markery využíváme MMA (cut-off > 2,5 µmol/l) a tHcy (cut-off > 12 µmol/l). Analyty v suché krevní kapce jsou stanovovány pomocí tandemové hmotnostní spektrometrie. Primárním cílem screeningu deficitu B_{12} je odhalení závažného nedostatku tohoto mikronutrientu u novorozenců. Mezi sekundární cíle patří detekce maternálního deficitu B_{12} , deficitu proteinů CblA, CblB, CblC, CblD, CblE, CblF, CblJ, CblX, deficitu MTHFR, deficitu methylmalonyl-CoA-mutázy, deficitu methylmalonyl-CoA-epimerázy, deficitu ACSF3 (kombinovaná malonová/methylmalonová acidurie – CMAMMA).

U pozitivních záchytů v rámci dalšího dif. dg. procesu provádíme jak u novorozence, tak u matky test vstřebávání vitamínu B_{12} (CobaSorb) a stanovujeme celkový B_{12} (stanoveno elektrochemiluminiscenční imunoanalýzou), holoTC (stanoveno chemiluminiscenční imunoanalýzou),

Tab. 1: Výsledky pilotního novorozeneckého laboratorního screeningu deficitu B₁₂

Konfirmační vyšetření							
Pár dítě–matka	HoloTC < 30 pmol/l	Celkový B ₁₂ < 145 pmol/l	MMA > 700 nmol/l (dítě) > 270 nmol/l (matky)	tHcy > 10 μmol/l (dítě) > 15 μmol/l (matky)	CobaSorb	Známky gastritidy	Závěr NLS
Dítě A	2	51	32900	126	Vstřebává		Pravá pozitivita
Matka A	5	84	3250	42	Nevstřebává	Chronická gastritida	
Dítě B	53	137	473	8	Vstřebává		Falešná pozitivita
Matka B	68	338	221	12	Vstřebává	Negativní	
Dítě C	3	74	1550	36	Vstřebává		Pravá pozitivita
Matka C	10	134	1230	19	Nevstřebává	Chronická gastritida	
Dítě D	5	74	6820	32	Vstřebává		Pravá pozitivita
Matka D	24	N/A	1930	16	N/A	N/A	
Dítě E	> 256	625	2830	12	N/A		Pravá pozitivita*
Matka E	> 256	545	231	9,7	N/A	Negativní	
Dítě F	58	284	47000	N/A	N/A		CMAMMA [†]
Matka F	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	

N/A – není dostupné; červeně – hodnoty nad referenčním rozmezím; modře – hodnoty pod referenčním rozmezím.
*Výrazně suprafyziologické hodnoty B₁₂ a holoTC svědčí pro možnou non-compliance a užívání B₁₂ před vyšetřením. Pro pravý deficit B₁₂ svědčí elevace MMA.
†Dítě zachyceno přes výraznou elevaci MMA v pupečnickové krvi, následně potvrzena elevace MMA ze suché kapky. Primární markery byly v referenčním rozmezí.

foláty (stanoveno elektrochemiluminiscenční imunoanalýzou), sérovou MMA (stanoveno kapalinovou chromatografií s tandemovou hmotnostní spektrometrií), tHcy (stanoveno vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií) a vybrané sirné metabolity. U matek dále stanovujeme protilátky proti vnitřnímu faktoru (stanoveno ELISA), gastrinu (stanoveno chemiluminiscenční imunoanalýzou), protilátky proti parietálním buňkám (stanoveno nepřímou imunofluorescencí). Všechny biochemické metody jsou ve VFN rutinně využívány.

VÝSLEDKY

K 21. 2. 2024 bylo ve spolupracujících porodnicích odebráno 23 713 suchých krevních kapek, deficit B₁₂ byl vyšetřen v 20 419 krevních kapkách. Konsentující matky s pilotním projektem screeningu B₁₂ představovaly 86,1% z celkového počtu odebraných vzorků. Celkově 863 novorozenců mělo pozitivní alespoň 1 marker, 2nd tier MMA představoval 4,2%. Celkově jsme do 21. 2. 2024 zachytili 6 novorozenců s elevovanými hodnotami MMA. Ve 4 případech se jednalo o pravou pozitivitu, 1 případ byl falešně pozitivní, 1 případ byl záhyt CMAMMA. V našich předběžných výsledcích dosahoval neonatální deficit B₁₂ incidence 1 : 5105 (95% CI 1 : 1994 – 1 : 8735). Všichni zachycení novorozenci a jejich matky byli dále vyšetřováni a sledováni na KPDPM. Výsledky shrnuje tabulka 1. V rámci sekundárních cílů screeningu se podařilo zachytit 1 novorozence s CMAMMA. Podle dostupné literatury se jedná o vzácnou biochemickou odchylku, pravděpodobně s benigním průběhem.⁽²⁹⁾

DISKUSE

Naše studie prokazuje relativně vysokou incidenci deficitu B₁₂ v novorozenecké populaci narozené v několika pražských nemocnicích, která je podobná incidenci fenylketonurie (1 : 4960) v České republice. Ve studii z německého Heidelbergu dosahovala incidence neonatálního deficitu B₁₂ 1 : 5355,⁽³⁰⁾ podobnou incidenci 1 : 5000 prokázala italská studie,⁽³¹⁾ avšak estonská studie prokázala incidenci 1 : 3000.⁽³²⁾ Předpokládáme, že za rozdílnou incidenci mezi jednotlivými státy může rozličný životní styl a jiné hodnoty cut-offs, které jsou využívány pro reportování jednotlivých případů. Vzhledem k tomu, že jeden z rizikových faktorů deficitu B₁₂ během gravidity a následně u novorozence je nízký socioekonomický status matky, předpokládáme, že na celorepublikové úrovni může incidence neonatálního deficitu B₁₂ dosahovat ještě vyšších čísel. Výhodou NLS deficitu B₁₂ je, že nepřímě cílí i na matky – jednou z nejčastějších příčin deficitu B₁₂ u novorozenců je in utero získaný deficit na podkladě nepoznaného deficitu u matky. Proto předpokládáme, že NLS může nepřímě pomáhat ke včasné diagnostice chronické gastritidy a jiných nemocí spojených s malabsorpcí B₁₂ u dosud klinicky asymptomatických matek. Limitace screeningu vidíme v tom, že nemusí odhalit lehčí formy deficitu B₁₂ při narození, které při nedostatečném obsahu Cbl v mléku deficitních matek mohou v pozdějším kojeneckém věku progredovat do závažného deficitu. Proto zůstává v rukou primárních pediatrů myslet na deficit B₁₂ u kojenců. Každé kojené dítě před zavedením příkrmů s neprospíváním, opožděným PMV nebo hypotonií by v rámci dif. dg. procesu mělo mít vyšetřený metabolismus B₁₂.

ZÁVĚR

Předběžná data z naší studie prokazují vysokou incidenci (1 : 5105) neonatálního deficitu B₁₂ u novorozenců narozených v pražských porodnicích. Předpokládáme, že zařazení screeningu deficitu B₁₂ ze suché krevní kapky mezi celoplošný NLS splňuje kritéria WHO podle Wilsona a Jungera.

Neonatální deficit B₁₂ je potencionálně závažný stav, který může vést k nevratnému poškození CNS, ovšem existuje jednoduchá, dostupná, rodinu nezatěžující a finančně nenáročná léčba. Naše studie může sloužit jako vědecký podklad k zařazení deficitu B₁₂ do rutinního NLS v České republice. |

LITERATURA

- Gille D, Schmid A. Vitamin B12 in meat and dairy products. *Nutr Rev* 2015; 73(2): 106–115.
- Murphy MM, et al. Longitudinal study of the effect of pregnancy on maternal and fetal cobalamin status in healthy women and their offspring. *J Nutr* 2007; 137(8): 1863–1867.
- Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline. Washington, D.C.: National Academies Press 1998.
- Stubbe J. Binding site revealed of nature's most beautiful cofactor. *Science* 1994; 266(5191): 1663–1664.
- Mascarenhas R, Gouda H, Ruetz M, Banerjee R. Human B12-dependent enzymes: Methionine synthase and methylmalonyl-CoA mutase. 2022: 309–326. doi: 10.1016/bs.mie.2021.12.012
- Froese DS, Gravel RA. Genetic disorders of vitamin B 12 metabolism: eight complementation groups – eight genes. *Expert Rev Mol Med* 2010; 12: e37.
- Bassila C, et al. Methionine synthase and methionine synthase reductase interact with MMACHC and with MMADHC. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease* 2017; 1863(1): 103–112.
- Huemer M, Baumgartner MR. The clinical presentation of cobalamin-related disorders: From acquired deficiencies to inborn errors of absorption and intracellular pathways. *J Inher Metab Dis* 2019; 42(4): 686–705.
- Fedosov SN. Physiological and molecular aspects of cobalamin transport. 2012: 347–367. doi: 10.1007/978-94-007-2199-9_18
- Herrmann W, Obeid R. Cobalamin deficiency. 2012: 301–322. doi: 10.1007/978-94-007-2199-9_16
- Hannibal L, et al. Biomarkers and algorithms for the diagnosis of vitamin B12 deficiency. *Front Mol Biosci* 2016; 3.
- Hvas AM, Nexø E. Holotranscobalamin as a predictor of vitamin B12 status. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41(11). doi: 10.1515/CCLM.2003.228
- Nexo E, Hoffmann-Lücke E. Holotranscobalamin, a marker of vitamin B-12 status: analytical aspects and clinical utility. *Am J Clin Nutr* 2011; 94(1): 359S–365S.
- Bjørke Monsen AL, Ueland PM. Homocysteine and methylmalonic acid in diagnosis and risk assessment from infancy to adolescence. *Am J Clin Nutr* 2003; 78(1): 7–21.
- Bailey RL, et al. Monitoring of vitamin B-12 nutritional status in the United States by using plasma methylmalonic acid and serum vitamin B-12. *Am J Clin Nutr* 2011; 94(2): 552–561.
- Savage DG, Lindenbaum J, Stabler SP, Allen RH. Sensitivity of serum methylmalonic acid and total homocysteine determinations for diagnosing cobalamin and folate deficiencies. *Am J Med* 1994; 96(3): 239–246.
- Hay G, Johnston C, Whitelaw A, et al. Folate and cobalamin status in relation to breastfeeding and weaning in healthy infants. *Am J Clin Nutr* 2008; 88(1): 105–114.
- E. Greibe, et al. Cobalamin and haptocorrin in human milk and cobalamin-related variables in mother and child: a 9-mo longitudinal study. *Am J Clin Nutr* 2013; 98(2): 389–395.
- Herrmann W, Obeid R. Utility and limitations of biochemical markers of vitamin B12 deficiency. *Eur J Clin Invest* 2013; 43(3): 231–237.
- Kim J, Kim H, Roh H, Kwon Y. Causes of hyperhomocysteinemia and its pathological significance. *Arch Pharm Res* 2018; 41(4): 372–383.
- Honzik T, Adamovicova M, Smolka V, et al. Clinical presentation and metabolic consequences in 40 breastfed infants with nutritional vitamin B12 deficiency – What have we learned? *Eur J Paediatric Neurol* 2010; 14(6): 488–495.
- Wirthensohn M, Wehrli S, Ljungblad UW, Huemer M. Biochemical, nutritional, and clinical parameters of vitamin B12 deficiency in infants: a systematic review and analysis of 292 cases published between 1962 and 2022. *Nutrients* 2023; 15(23): 4960.
- Depuis Z, et al. Pancytopenia due to vitamin B12 and folic acid deficiency – a case report. *Pediatr Rep* 2022; 14(1): 106–114.
- Simşek OP, Gönc N, Gümrük F, Cetin M. A child with vitamin B12 deficiency presenting with pancytopenia and hyperpigmentation. *J Pediatr Hematol Oncol* 2004; 26(12): 834–6.
- Ho CH, Thomas M, McGuire E, Yano S. 2-year-old girl with pancytopenia due to vitamin B12 (cobalamin) deficiency. *J Paediatr Child Health* 2014; 50(11): 926–928.
- Monsen ALB, et al. Determinants of cobalamin status in newborns. *Pediatrics* 2001; 108(3): 624–630.
- Hussein L, Abdel Aziz S, Tapouzada S. Serum vitamin B 12 concentrations among mothers and newborns and follow-up study to assess implication on the growth velocity and the urinary methylmalonic acid excretion. *Int J Vitamin Nutr Res* 2009; 79(56): 297–307.
- Jawaid I, Beales I, Brown, M, et al. Vitamin B12 deficiency in over 16s: diagnosis and management. Dostupné na: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng239>
- Levtova A, et al. Combined malonic and methylmalonic aciduria due to ACSF3 mutations: Benign clinical course in an unselected cohort. *J Inher Metab Dis* 2019; 42(1): 107–116.
- Gramer G, et al. Newborn screening for vitamin B12 deficiency in Germany—strategies, results, and public health implications. *J Pediatr* 2020; 216: 165–172.e4.
- Scolamiero E, et al. Maternal vitamin B12 deficiency detected in expanded newborn screening. *Clin Biochem* 2014; 47(18): 312–317.
- Reinson K, Künnapas K, Kriisa A, et al. High incidence of low vitamin B12 levels in Estonian newborns. *Mol Genet Metab Rep* 2018; 15: 1–5.