



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA
MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

JORGE MIGUEL RAMALHO CARTEIRO

Doença de Alzheimer e homocisteína
A dieta mediterrânica como possível fator modificador

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE NUTRIÇÃO CLÍNICA

Trabalho realizado sob a orientação de:

PROF^ª DOUTORA LÈLITA SANTOS

MESTRE HUGO CLEMENTE

JANEIRO/2017

ÍNDICE

Resumo	4
Abstract	5
Lista de abreviaturas	6
Introdução	7
Material e métodos	10
Doença de <i>Alzheimer</i>	11
Homocisteína	13
Doença de <i>Alzheimer</i> e homocisteína	17
Associação entre doença de Alzheimer, homocisteína, ácido fólico e vitamina B12	20
Doença de <i>Alzheimer</i> e suplementação de ácido fólico e vitamina B12	23
Dieta mediterrânea e doença de <i>Alzheimer</i> – Teor em ácido fólico, vitamina B12 e relação com homocisteinemia	32
Discussão e Conclusão	40
Referências Bibliográficas	45

RESUMO

Nas últimas décadas tem-se assistido a um aumento considerável da esperança média de vida, tendo o envelhecimento um risco aumentado de alterações não fisiológicas, incluindo o declínio cognitivo e demência. A doença de *Alzheimer* é a forma mais frequente de demência, a sua incidência aumenta com a idade e a hiperhomocisteinemia é um fator de risco modificável e independente, estando associada a lesões da substância branca, atrofia cerebral e deposição de emaranhados neurofibrilares. Além disso, a hiperhomocisteinemia poderá ser um fator causal facilmente identificado e corrigido, pois decorre maioritariamente do défice de ácido fólico e/ou vitamina B12, pelo que uma dieta saudável poderá ser uma arma terapêutica para combater esse fator de risco, uma vez que o ácido fólico e vitamina B12 estão facilmente acessíveis e sem custos adicionais nos alimentos que podemos ingerir diariamente.

Neste artigo de revisão procurou-se reunir a informação científica mais relevante e atualizada no sentido de perceber se a dieta mediterrânica, enquanto modelo de alimentação saudável, consegue fornecer a quantidade necessária de ácido fólico e vitamina B12 que permite manter as concentrações séricas destes micronutrientes em níveis que assegurem uma homocisteinemia normal e, por conseguinte, diminuir o risco de desenvolvimento de doença de *Alzheimer*. Concluiu-se que as concentrações séricas de ácido fólico e vitamina B12 potencialmente obtidas através da adoção da dieta mediterrânica, permitem assegurar uma homocisteinemia dentro dos valores normais e, desta forma, modificar este reconhecido fator de risco para o desenvolvimento de doença de *Alzheimer*.

Palavras-chave: Doença de *Alzheimer*; Homocisteína; Vitamina B12; Ácido Fólico; Dieta Mediterrânica

ABSTRACT

In the last decades there has been a considerable increase in average life expectancy, with an increased risk of non-physiological changes, one of which is cognitive decline and dementia. *Alzheimer's* disease is the most common form of dementia, its incidence increases with age and hyperhomocysteinemia is a modifiable and independent risk factor, being associated with white matter lesions, cerebral atrophy and deposition of neurofibrillary tangles. In addition, hyperhomocysteinemia is a causal factor that is easily identified and corrected, since this condition arises mainly from folic acid and/or vitamin B12 deficiency. Thus, a healthy diet may be a therapeutic weapon to combat this risk factor, since folic acid and vitamin B12 are easily accessible and have no additional cost in the food we can eat on a daily basis.

In this review article sought to gather the most relevant and up-to-date scientific information in order to understand whether the Mediterranean diet, as a healthy eating model, can provide the necessary amount of folic acid and vitamin B12 that allows the maintenance of the serum concentrations of these micronutrients at levels that ensure normal homocysteinemia and therefore decrease the risk of developing *Alzheimer's* disease. It was concluded that the serum concentrations of folic acid and vitamin B12 potentially achieved through the adoption of the Mediterranean diet, allow homocysteinemia to be ensured within the normal values and, in this way, modify this recognized risk factor for the development of *Alzheimer's* disease.

Keywords: *Alzheimer's* disease; Homocysteine; vitamin B12; Folic acid; Mediterranean diet

LISTA DE ABREVIATURAS

$A\beta$ – Proteína beta-amilóide

ApoE - apolipoproteína E

Cdk5 - Cinase 5 dependente de ciclinas

DA - Doença de *Alzheimer*

INE - Instituto Nacional de Estatística

P-tau - Proteína tau hiperfosforilada

MMSE - Mini-Mental State Examination

MTHFR - Metilenotetrahidrofolato redutase

SAM - S-adenosil metionina

NMDA - N-metil D-Aspartato

NO - Óxido nítrico

PPA - Proteína precursora da amilóide

PP2A - Proteína fosfatase 2A

INTRODUÇÃO

Dados da Organização Mundial de Saúde referem que a Doença de *Alzheimer* (DA) é a causa mais comum de demência, sendo responsável por 60 a 70% dos casos de demência.¹ Em Portugal estima-se que existam cerca de 182.000 pessoas com demência, das quais 130.000 têm DA.²

Em 2012 nos países desenvolvidos a DA foi considerada a quarta causa de morte.³ No nosso país, dados referentes a 2012 revelam que faleceram 1.740 pessoas com DA, o que representa 1,6% da mortalidade total, uma taxa bruta de mortalidade de 16,6 óbitos por 100.000 habitantes e uma taxa de mortalidade padronizada para as idades de 65 e mais anos de 66,7 óbitos por 100.000 habitantes.⁴

Porém, o impacto da DA na sociedade atual vai muito mais além do facto de constituir uma das principais causas de mortalidade, pois assume-se também com uma importante fonte de morbilidade. Trata-se de uma doença degenerativa, progressivamente incapacitante e despersonalizante, caracterizando-se, por isso, como uma patologia profundamente dramática para o doente e família. Por outro lado, acarreta custos diretos e indiretos muito elevados, quer para o orçamento familiar quer para o sistema nacional de saúde. Estima-se que a demência contribua com mais de 11,9% dos anos vividos com incapacidade nas pessoas acima dos 60 anos, valor por exemplo superior ao calculado para os acidentes vasculares cerebrais (9,5%).⁵ De acordo com os dados da *Intercontinental Marketing Services Health*, no nosso país, em 2013, estariam diagnosticados com DA e a receber anti-demenciais 76.250 doentes, o que representa um encargo financeiro de 37 M€/ano.⁵ Não obstante, pela estimativa supracitada para o número de pessoas com DA em Portugal, percebe-se que poderá ser uma doença ainda sub-diagnosticada e sub-tratada. Deste modo, e dado que tanto a incidência como a prevalência da demência aumentam com a idade, o impacto económico desta doença torna-se mais

preocupante ao analisar-se as estimativas do INE que apontam para um contínuo aumento da população idosa em Portugal nas próximas décadas, representando entre 36 a 43% da população em 2060, com um respetivo índice de envelhecimento na ordem dos 287 a 464 idosos por cada 100 jovens.⁶ De acordo com o Relatório Mundial de *Alzheimer* de 2010, estima-se que o envelhecimento global da população terá um maior impacto económico motivado pela demência do que aquele justificado em conjunto pelo cancro, doenças cardíacas e acidente vascular cerebral.⁷ Deste modo, quer pelo impacto financeiro nos sistemas de saúde, quer sobretudo pela sobrecarga emocional e física da DA no doente e família, é importante concentrar esforços na luta contra esta doença, particularmente a nível da prevenção.

Estão estabelecidos diversos fatores de risco para o desenvolvimento de DA, sendo a hiperhomocisteinemia um fator de risco importante, independente e modificável, verificando-se que um nível de homocisteína no plasma superior ao limite máximo do normal (14 $\mu\text{mol/L}$), traduz um risco de desenvolvimento de DA duas vezes superior ao de uma pessoa com níveis normais.⁸ Por sua vez, a dieta mediterrânica inclui uma grande quantidade de alimentos que são fonte de ácido fólico e vitamina B12, sendo que estudos epidemiológicos e clínicos demonstraram existir menores níveis de marcadores inflamatórios, tais como homocisteína, em pessoas que seguem o padrão alimentar mediterrânico.⁹ Deste modo, é importante perceber a relação existente entre os níveis séricos de homocisteína, ácido fólico e vitamina B12 com a incidência de DA, uma vez que se está perante possíveis fatores de risco suscetíveis de serem modificados pela adesão ao padrão de dieta mediterrânico.

Este artigo de revisão tem como principal objetivo perceber se a dieta mediterrânica poderá fornecer a quantidade necessária de ácido fólico e vitamina B12 que permita manter as concentrações séricas destes micronutrientes em níveis que demonstrem estar associados à diminuição do risco de desenvolvimento de DA. Para tal, procurou-se clarificar a associação entre DA e os níveis séricos de homocisteína, vitamina B12 e ácido fólico; avaliar o teor em

vitamina B12 e ácido fólico fornecidos pela dieta mediterrânea e se esse teor poderá contribuir para a redução dos níveis séricos de homocisteína. Em suma, perceber se a dieta mediterrânea poderá interferir na associação atualmente reconhecida entre DA e os níveis sérios de homocisteína, vitamina B12 e ácido fólico.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a elaboração do presente artigo de revisão procedeu-se a uma pesquisa de artigos científicos, revisões sistemáticas e meta-análises publicados entre Janeiro de 2006 até Outubro de 2016, nas bases de dados *PubMed*, *Embase*, *B-On* e *ClinicalKey*. Na pesquisa foram utilizadas as palavras-chave doença de *Alzheimer*, homocisteína, vitamina B12, ácido fólico e dieta mediterrânica. Limitou-se a pesquisa à literatura em língua inglesa e portuguesa, não tendo sido considerados outros critérios de exclusão. Inicialmente foram pesquisados e analisados estudos que investigaram a associação entre DA e homocisteína e posteriormente, procedeu-se à pesquisa e análise de estudos que relacionassem DA, homocisteína, ácido fólico e vitamina B12. Dos estudos encontrados nesta segunda pesquisa, analisou-se primeiro a informação sobre a associação entre DA, homocisteína e os níveis séricos de ácido fólico e vitamina B12 e, de seguida, a informação sobre DA, homocisteína e a suplementação com ácido fólico e/ou vitamina B12. Por fim, procurou-se informação sobre dieta mediterrânica e DA. Globalmente, foi obtida informação de um total de 51 artigos, sendo 18 revisões sistemáticas, 5 meta-análises e 28 artigos científicos originais.

De acordo com a bibliografia consultada dividiram-se os resultados tentando expor o estado da arte no que se refere aos diferentes capítulos de Doença de *Alzheimer*, homocisteína, relação entre a DA e a homocisteína, associação entre a DA, homocisteína, ácido fólico e vitamina B12 e, finalmente, a relação da dieta mediterrânica com a DA.

DOENÇA DE ALZHEIMER

A DA é a forma mais prevalente de demência, sendo o seu impacto nos serviços de saúde e na sociedade cada vez mais preocupante com o aumento da esperança média de vida.⁵ Por outro lado, representa uma ameaça grave à qualidade de vida do idoso e, por conseguinte, do bem-estar e dinâmica familiares. É uma doença que tem intrínseco um declínio progressivo da memória e de outras funções cognitivas, com consequentes alterações do comportamento, da personalidade e da capacidade funcional, o que requer a prestação de cuidados por terceiros para satisfação das necessidades diárias da pessoa com DA.² Trata-se, portanto, duma doença neurodegenerativa, existindo as formas familiar (de início mais precoce, antes dos 65 anos e menos frequente – cerca de 1% dos casos) e esporádica, mais tardia e mais comum. Em ambos os casos verificam-se danos seletivos de circuitos neuronais específicos no neocórtex, hipocampo e no sistema colinérgico do prosencéfalo.¹¹ As regiões afetadas evidenciam uma redução da densidade de neurónios, a deposição a nível extracelular de proteína beta-amilóide ($A\beta$) formando as placas senis e o desenvolvimento em muitos neurónios de emaranhados neurofibrilares, que refletem a acumulação local de filamentos intracitoplasmáticos anormais, compostos por isoformas hiperfosforiladas da proteína tau (P-tau).^{8,11} Estas alterações histopatológicas começam muitos anos antes das manifestações clínicas da DA. Alterações relacionadas com a concentração de $A\beta$ e P-tau podem ser detetadas no líquido cefalorraquidiano em indivíduos idosos ainda assintomáticos, podendo predizer o declínio cognitivo.¹²

Têm sido apontados vários fatores de risco, entre os quais se destacam a idade, o sexo feminino, a genética, história de traumatismo crânio-encefálico, o nível de escolaridade, a presença de doenças cardiovasculares, diabetes *mellitus* tipo 2, hiperhomocisteinemia, inatividade física e hábitos alimentares incorretos.^{2,11} Daqui se depreende que, embora haja

alguns fatores de risco que não são modificáveis, existem outros que podem ser evitáveis através da adoção dum estilo de vida saudável, nomeadamente uma alimentação cuidada, exercício físico e uma mente ativa.

Relativamente às causas genéticas relacionadas com a DA de início precoce, mais de 100 mutações raras e altamente penetrantes foram descritas em três genes: proteína precursora da amilóide (PPA), presenilina 1 e presenilina 2.¹¹ Contudo, interessa abordar a DA de início tardio, uma vez que é a forma mais comum e com possibilidade de intervenção preventiva, na qual o gene de risco mais consistentemente associado é o gene da apolipoproteína E (ApoE). Porém, a identificação de genes de risco específico para a DA esporádica é discutível dado que o aumento global do risco conferido por um único gene é pequeno.¹³

De acordo com Beydoun M *et al.* (2014)¹⁴, os três fatores de risco mais fortes para o desenvolvimento de DA são níveis elevados de homocisteína plasmática, baixo nível de escolaridade e inatividade física. A hiperhomocisteinemia é um achado comum no idoso e está associada com o declínio cognitivo ao longo do tempo. Segundo Popp J *et al.* (2009)¹², diversos estudos epidemiológicos consideram a hiperhomocisteinemia como um fator de risco forte e independente para o desenvolvimento de DA, existindo evidências crescentes, nomeadamente através de experiências em culturas de células e modelos de ratos, de que a homocisteína pode contribuir para o aumento tanto da produção de $A\beta$ como de P-tau.

HOMOCISTEÍNA

A homocisteína é um aminoácido intermediário do metabolismo da metionina, que por sua vez é um aminoácido essencial, proveniente da dieta alimentar. No que respeita ao seu metabolismo, a homocisteína tem três principais destinos: a remetilação, que permite regenerar metionina, a transulfuração da qual resulta a síntese de cisteína, ou a libertação para o meio extracelular, da qual resulta o aumento da sua concentração nos fluídos extracelulares tais como o plasma e a urina. Existe ainda uma outra via metabólica da homocisteína, que envolve a sua desaminação, mas tem sido demonstrado que parece ter pouca importância fisiológica no homem.¹⁵

Cerca de 80% da homocisteína circulante encontra-se ligada a proteínas, enquanto que cerca de 20% da homocisteína plasmática circula livremente, podendo apresentar-se na sua forma reduzida ou oxidada, que é a mais frequente e forma 2 tipos de dissulfítos: dímeros de homocisteína ou dímeros de homocisteína-cisteína.¹⁶ Em indivíduos saudáveis, os níveis de homocisteína plasmática estão relacionados com a idade e o género, sendo os valores de referência da homocisteinemia entre 6 a 12 $\mu\text{mol/L}$ nas mulheres e entre 8 a 14 $\mu\text{mol/L}$ nos homens.¹⁵ O aumento dos níveis de exportação de homocisteína para o plasma, como resultado do desequilíbrio entre a sua produção e o seu metabolismo, designa-se por hiperhomocisteinemia e observa-se em aproximadamente 5% da população geral sendo classificada como moderada para valores entre 15 a 30 $\mu\text{mol/L}$, intermédia entre 31 a 100 $\mu\text{mol/L}$ ou grave quando superior a 100 $\mu\text{mol/L}$.¹⁶

Para compreender claramente a relação entre homocisteína e os níveis de ácido fólico e vitamina B12, é importante abordar as principais vias metabólicas da homocisteína, nomeadamente a remetilação e a transulfuração. Na remetilação estabelece-se uma ponte

fundamental entre o ciclo da metionina e o ciclo do ácido fólico, permitindo a regeneração da metionina, tal como é possível verificar na figura 1.

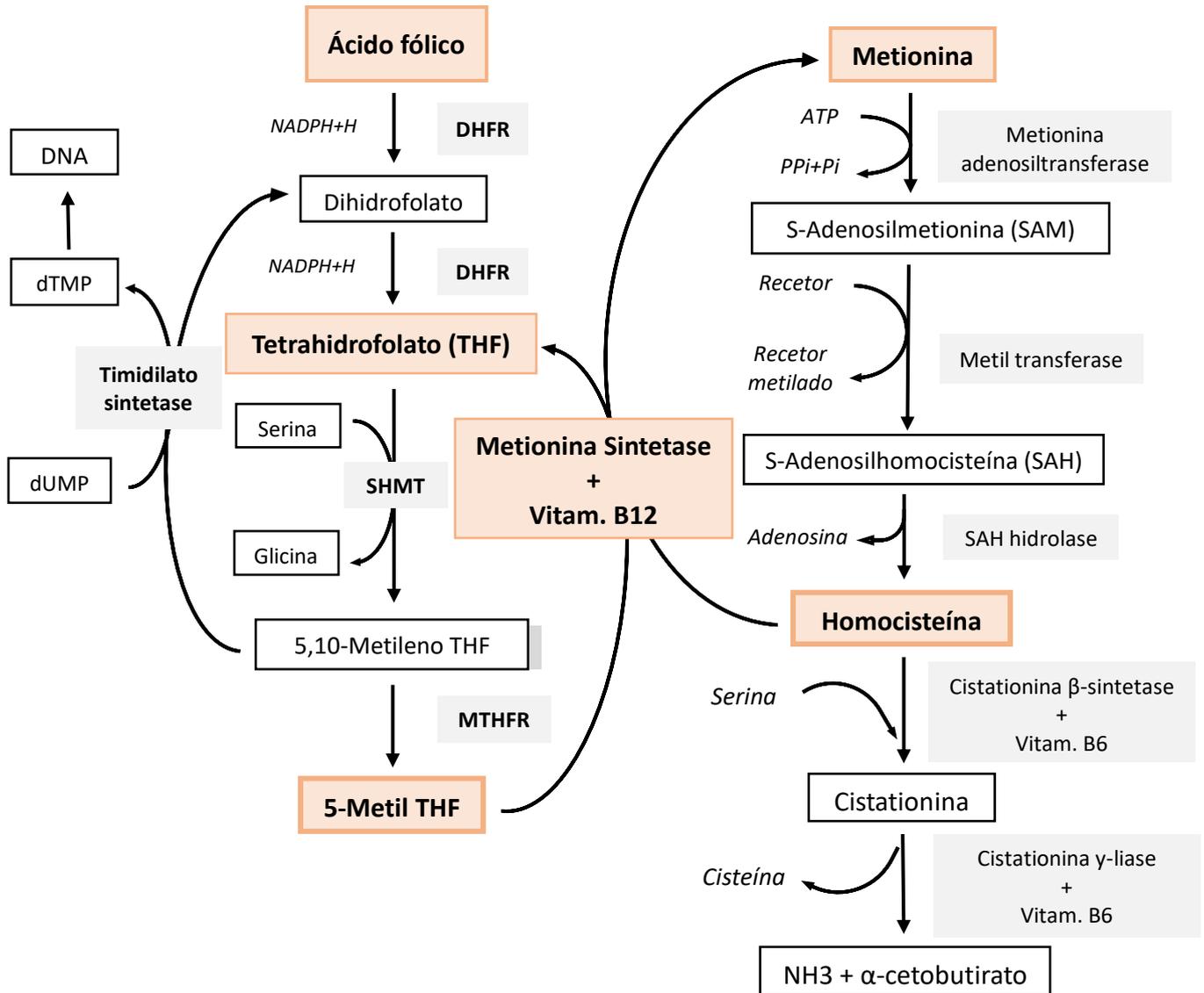


Figura 1. Metabolismo do ácido fólico e da homocisteína.

(DHFR – dihidrofolato redutase; SHMT – hidroximetil transferase; MTHFR - metilenotetrahydrofolato redutase)

Coşar A *et al.* (2014)⁵⁹

Verifica-se assim, no ciclo da metionina, que esta por adição da adenosina proveniente duma molécula de ATP origina um importante dador de grupos metil no organismo, a S-adenosil metionina (SAM). A SAM após desmetilação converte-se em S-adenosil

homocisteína, que por hidrólise origina adenosina e homocisteína. Por sua vez a homocisteína pode ser remetilada regenerando assim a metionina. Esta reação é catalisada pela enzima metionina sintetase, também conhecida como homocisteína metil-transferase, e por uma coenzima derivada da vitamina B12, a metilcobalamina.¹⁷ É neste ponto do ciclo da metionina que é estabelecida a ponte com o ciclo do ácido fólico, uma vez que o dador do grupo metil é o 5-metiltetrahydrofolato, que resulta da conversão do ácido fólico da dieta primeiramente em 5,10-metilenotetrahydrofolato e posteriormente em 5-metiltetrahydrofolato, sob ação da enzima metilenotetrahydrofolato redutase (MTHFR).¹⁵ A coenzima derivada da vitamina B12 e o 5-metiltetrahydrofolato são necessários na remetilação da homocisteína em todos os tecidos no organismo, exceto no fígado, onde a remetilação se processa a partir de outro composto N-metilado, a betaína.¹⁶

Em suma, a conversão da homocisteína em metionina está dependente da funcionalidade das enzimas metionina sintetase e metilenotetrahydrofolato redutase, bem como da biodisponibilidade de vitamina B12 e ácido fólico.

Quanto à outra via de metabolização da homocisteína, a transulfuração, ocorre nas situações de sobrecarga de metionina. Neste processo catabólico, a homocisteína combina-se primeiramente com a serina, sob ação da cistationina β -sintetase que requer a participação duma coenzima, a vitamina B6 ou piridoxina.¹⁶ Desta reação resulta a cistationina que depois é desaminada e clivada em cisteína e α -cetobutirato, pela enzima cistationinase também dependente da vitamina B6.¹⁷

Múltiplos fatores poderão ser responsáveis pela hiperhomocisteinemia, tais como: mutações nos genes que codificam as enzimas que integram as vias de metabolização da homocisteína (como a metionina sintetase, a MTHFR ou a cistationina β -sintetase), e os distúrbios nutricionais que são a causa mais comum do aumento dos níveis séricos de homocisteína, sobretudo uma dieta pobre nas vitaminas do complexo B que atuam como

coenzimas nas vias de metabolização da homocisteína, nomeadamente a vitamina B12, ácido fólico e a vitamina B6.¹⁶ São ainda apontados outros fatores responsáveis pelo aumento dos níveis séricos de homocisteína como a idade, o género e a toma de alguns fármacos, como o metotrexato e alguns antiépiléticos. Relativamente à idade e ao género, a hiperhomocisteinemia é mais comum em idosos e no género masculino, verificando-se contudo, um aumento no género feminino após a menopausa devido à diminuição dos estrogénios.¹⁵ Embora os níveis séricos de homocisteína aumentem com a idade e com o declínio da função renal, são largamente determinados pela ingestão dietética das vitaminas do grupo B que participam na conversão da homocisteína em metionina e cisteína, pelo que a homocisteinemia pode ser modificada através de intervenções dietéticas.¹⁴ Segundo Kennedy D (2016)¹⁸ vários estudos têm-se focado na relação entre os níveis de homocisteinemia e as concentrações séricas de vitaminas do grupo B, verificando-se que a suplementação sobretudo com ácido fólico e vitamina B12 permite diminuir a homocisteína em circulação. Quanto à suplementação com vitamina B6, de acordo com Smith AD (2008)¹⁹ a maior parte dos estudos parece apontar para uma menor importância desta vitamina na redução dos níveis de homocisteína, existindo mesmo alguns estudos que referem não haver qualquer efeito adicional à suplementação com ácido fólico e vitamina B12.

DOENÇA DE ALZHEIMER E HOMOCISTEÍNA

Desde a descoberta das propriedades aterogênicas da homocisteína em 1969, diversos estudos têm demonstrado que níveis séricos elevados de homocisteína constituem um fator de risco importante para um certo número de doenças, entre as quais a DA.²⁰ Níveis elevados de homocisteína têm sido associados a um pior desempenho em vários domínios cognitivos, incluindo a execução de tarefas, velocidade psicomotora, fluência verbal e memória.²¹ De acordo com McMahon JA *et al.* (2006)²² verifica-se maior propensão para o desenvolvimento de DA em pessoas com concentrações de homocisteína sérica acima de 14 $\mu\text{mol/L}$ (considerado limite superior da normalidade) do que em pessoas com menores concentrações. Clarke R *et al.* (2007)²³ desenvolveram um estudo no Reino Unido que avaliou o declínio cognitivo ao longo de 10 anos em 691 indivíduos idosos (idade média 71,9 anos), constatando que uma duplicação da homocisteína de 10 para 20 $\mu\text{mol/L}$ foi associada com um aumento de 88% da taxa de declínio cognitivo. Enquanto que Kennedy D (2016)¹⁸ identificou uma clara relação entre os níveis de homocisteína e a DA, verificando que uma homocisteína sérica elevada associa-se a um aumento de 35% da possibilidade de vir a desenvolver DA e a um risco de cerca de 50% de sofrer declínio cognitivo clinicamente significativo. Portanto, é vasta a evidência de que níveis elevados de homocisteína sérica associam-se a um risco maior de desenvolvimento de DA.

A plausibilidade biológica de como a homocisteína se relaciona com a DA, tem vários mecanismos candidatos. De acordo com Wang B *et al.* (2014)⁸, alguns estudos têm relatado que altos níveis de homocisteína plasmática podem aumentar significativamente o teor de radicais livres de oxigênio, os quais são indutores de toxicidade celular, particularmente a neurotoxicidade, sendo uma das suas possíveis consequências a potenciação da clivagem da PPA em $A\beta$, aumentando assim a sua produção e conseqüente deposição. A hiperhomocisteinemia pode também causar doença de pequenos vasos, a qual resulta da ação

direta e indireta da homocisteína sobre o endotélio vascular. Sabe-se que a hiperhomocisteinemia está associada a níveis mais elevados do inibidor da síntese do óxido nítrico (NO) e, por conseguinte, níveis baixos de NO no plasma, o que coloca em causa a vasodilatação mediada por este agente, podendo por isso contribuir para a hipoperfusão cerebral e, desta forma, promover situações de isquemia transitória e aumentar o risco de demência.²⁴

Segundo Wen Y *et al.* (2007)²⁵, estudos em animais demonstraram que a isquemia transitória pode levar a deposição de P-tau em neurónios do hipocampo, verificando-se que a P-tau forma filamentos intracelulares semelhantes aos encontrados na DA e é notável que quase todos os neurónios com P-tau mostram marcas de apoptose. Hooshmand B *et al.* (2013)²⁶ desenvolveram um estudo que pretendia investigar as possíveis ligações entre a homocisteína e os achados neuropatológicos e de ressonância magnética cerebral pós-morte em 265 idosos com idade igual ou superior a 85 anos, tendo verificado uma forte relação entre a homocisteína sérica e a densidade populacional de emaranhados neurofibrilares neocorticais. A associação entre homocisteína e os emaranhados neurofibrilares foi ainda mais forte nos indivíduos que tiveram demência ou enfartes cerebrais.²⁶

Nas pessoas com DA verifica-se também uma atrofia cerebral que acompanha a progressão da doença e segundo Smith AD *et al.* (2016)²⁴ vários estudos têm demonstrado uma associação entre a homocisteína e a atrofia da substância cinzenta, chegando a verificar-se uma diminuição da espessura do lóbulo temporal medial entre 19 a 23% em pessoas com homocisteína sérica superior a 11 µmol/L. Ainda de acordo com Smith AD *et al.* (2016)²⁴ têm sido descritos múltiplos possíveis mecanismos responsáveis pelo efeito deletério da homocisteína sobre a função cerebral, nomeadamente:

- Provoca a morte neuronal por ativação excitotóxica direta do recetor NMDA (N-metil D-Aspartato).

- Gera radicais livres de oxigênio e, portanto, stress oxidativo a nível neuronal, que potencia a formação e deposição de $A\beta$.
- Causa angiopatia amilóide e disfunção do endotélio vascular cerebral, o que leva a isquemia cerebral e, por conseguinte, à morte neuronal e lesões da substância branca.
- Ativa tau cinases, tais como Cdk5 (cinase 5 dependente de ciclinas) levando à deposição do emaranhado neurofibrilar.
- Causa danos no DNA e limita a sua reparação, levando à apoptose de neurónios.
- Aumenta a s-adenosil homocisteína, que inibe reações de metilação cruciais, tais como: a metilação de fosfatidiletanolamina, levando ao comprometimento da condução sináptica; inibe a atividade da proteína fosfatase 2A (PP2A), conduzindo à deposição de emaranhados neurofibrilares;
- Estimula a resposta do retículo endoplasmático ao stress, levando à formação de $A\beta$.
- Compromete a integridade da barreira hematoencefálica.

Em suma, há evidência de que a hiperhomocisteinemia está associada a DA, existindo um grande número de hipóteses plausíveis que relacionam a homocisteína com neurodegeneração e declínio cognitivo, contudo, os mecanismos fisiopatológicos subjacentes a essa associação não estão ainda totalmente clarificados.

ASSOCIAÇÃO ENTRE DOENÇA DE ALZHEIMER, HOMOCISTEÍNA, ÁCIDO FÓLICO E VITAMINA B12

Com base na evidência científica supracitada, parece claro existir uma associação entre níveis séricos elevados de homocisteína e o risco aumentado de desenvolvimento de DA. Uma vez que a hiperhomocisteinemia é considerada um marcador do déficit de ácido fólico e de vitamina B12 no organismo, importa clarificar a associação entre essas duas vitaminas, a DA e a homocisteína.²⁷

Smith AD (2008)¹⁹ verificou que pessoas com DA apresentam níveis séricos baixos de ácido fólico (15,2 nmol/L, ref. 11-82 nmol/L), de vitamina B12 (215 pmol/L, ref. 148-738 pmol/L) e uma homocisteinemia elevada (16,3 µmol/L, ref. <14 µmol/L).²⁸

Ainda de acordo com Smith AD (2008)¹⁹ a grande maioria dos estudos demonstra uma correlação inversa entre déficit cognitivo ou demência e os níveis de ácido fólico e vitamina B12 e uma relação inversa entre os níveis dessas vitaminas do grupo B e os níveis de homocisteína. O autor descreve ainda uma relação inversa entre os níveis séricos de homocisteína e os subsequentes défices cognitivos.¹⁹ Conclui-se que níveis séricos baixos de ácido fólico e vitamina B12 se relacionam com um risco aumentado de desenvolvimento de DA, sendo essa relação mediada pela homocisteína.⁷ Todavia, os vários estudos publicados sobre este assunto não são totalmente consensuais. Por exemplo, Miller JW *et al.* (2009)²⁹ desenvolveram um estudo em que participaram 1535 pessoas com mais de 60 anos, tendo dividido os participantes em 4 grupos com base nos seus níveis séricos de ácido fólico e vitamina B12. Os autores verificaram que a combinação de níveis séricos baixos de vitamina B12 e níveis elevados de ácido fólico é a que está associada a maiores concentrações de homocisteína e maior propensão para comprometimento cognitivo, comparativamente com os grupos com baixo nível de vitamina B12 e níveis baixos ou normais de ácido fólico.²⁹ Morris

M *et al.* (2012)³⁰ verificaram também que um baixo nível de vitamina B12 (187–256,8 pmol/L) relaciona-se com um aumento significativo do declínio cognitivo e que essa relação é exacerbada na presença de níveis elevados de ácido fólico.

Porém, de acordo com o estudo desenvolvido por Chen H *et al.* (2015)⁷, em que participaram 230 indivíduos (115 com DA e 115 controlos saudáveis) com idades entre os 50 e os 85 anos e que foram distribuídos por 7 grupos de acordo com os níveis séricos de homocisteína, vitamina B12 e ácido fólico, concluiu-se, por comparação entre os grupos, que aqueles em que se verificou uma maior associação com a DA foram o grupo formado por indivíduos com homocisteína elevada, vitamina B12 normal e ácido fólico baixo e o grupo de indivíduos com homocisteína elevada, vitamina B12 baixa e ácido fólico normal ou baixo. Portanto, neste estudo verifica-se que níveis séricos baixos, separadamente ou em conjunto, de vitamina B12 e de ácido fólico associam-se a hiperhomocisteinemia e ao desenvolvimento de DA. Enquanto que de acordo com os estudos Miller JW *et al.* (2009)²⁹ e Morris M *et al.* (2012)³⁰, a associação mais forte verificou-se entre níveis baixos de vitamina B12 e níveis elevados de ácido fólico.

Apesar de não existir um resultado consensual sobre este assunto, é possível concluir-se que níveis baixos de ácido fólico e/ou de vitamina B12 associam-se a hiperhomocisteinemia e a DA, o que vai de encontro às conclusões de outras revisões sistemáticas e estudos sobre este tema.^{2, 18, 31-34} De acordo com os resultados de Miller JW *et al.* (2009)²⁹ e Morris M *et al.* (2012)³⁰ verifica-se também que níveis elevados de ácido fólico e baixos de vitamina B12 constituem um fator de risco para a DA. Pensa-se que esta situação decorre sobretudo da ingestão de alimentos fortificados com ácido fólico e da toma de suplementos, descurando-se em contrapartida a vitamina B12 e mascarando a sua deficiência, pelo que a suplementação isolada de ácido fólico pode não ser benéfica.³⁰ De acordo com Morris MS *et al.* (2007)³⁵, em pessoas com níveis baixos de vitamina B12, uma elevada concentração de ácido fólico

exacerba o efeito prejudicial da deficiência de vitamina B12, aumentando o risco de comprometimento cognitivo.

Resumindo, apesar da existência de alguma falta de consenso sobre determinados aspectos da relação entre os níveis séricos de ácido fólico, vitamina B12, homocisteína e DA, a evidência científica aponta maioritariamente para que níveis elevados de homocisteína e baixos níveis de ácido fólico e/ou de vitamina B12 são encontrados na DA e mais importante do que isso, estão associados ao aumento do risco de desenvolvimento desta doença. Um baixo nível de vitamina B12 na presença de um nível elevado de ácido fólico parece ser também um importante fator de risco.

DOENÇA DE ALZHEIMER E SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO FÓLICO E VITAMINA B12

Vários estudos têm investigado o papel da suplementação com ácido fólico e vitamina B12 no risco de desenvolvimento de DA e de acordo com Lopes da Silva S *et al.* (2014)²⁷, alguns desses estudos indicam que o reforço dessas vitaminas, além de diminuir a homocisteína no plasma e, dessa forma, intervir na prevenção dos efeitos decorrentes da hiperhomocisteinemia, também tem repercussões a nível do funcionamento neuronal ao permitir corrigir o comprometimento do metabolismo de outros substratos nutricionais que é também afetado por níveis baixos dessas vitaminas do grupo B.

Lau LM *et al.* (2007)³⁶ desenvolveram um estudo de base populacional, o *Rotterdam Scan Study*, em que participaram 1.033 voluntários não dementes com idades entre os 60 e os 90 anos, tendo constado que concentrações elevadas de ácido fólico estão associadas a melhoria da função cognitiva. Durga J *et al.* (2007)³⁷ realizaram também um ensaio clínico randomizado e duplamente cego, em que participaram 818 voluntários entre os 50 e os 70 anos, que tinham hiperhomocisteinemia e níveis séricos normais de vitamina B12. Foi-lhes dado aleatoriamente 800 µg de ácido fólico oral diário ou placebo, durante 3 anos, tendo os autores verificado que a suplementação com ácido fólico, comparativamente com os indivíduos que fizeram placebo, melhorou significativamente domínios da função cognitiva que tendem a diminuir com a idade. Além disso, os participantes que receberam suplemento apresentavam, no final do estudo, um processamento de informação semelhante ao dos indivíduos 2 anos mais jovens.³⁷ Para interesse do presente artigo de revisão importa analisar mais alguns dados obtidos no estudo de Durga J *et al.* (2007)³⁷, nomeadamente os níveis séricos de ácido fólico e de homocisteína alcançados com a suplementação e que podem ser observados na tabela 1.

	Início do estudo		3 anos após	
	Grupo suplementado	Grupo placebo	Grupo suplementado	Grupo placebo
Ácido fólico sérico médio (nmol/L)	12	12	76	12
Homocisteína sérica média (μmol/L)	13	12,9	10,1	13,4

Tabela 1 – Níveis séricos médios de ácido fólico e homocisteína no início e no fim do estudo.

Adaptado de: Durga J *et al.* (2007)³⁷

Verifica-se assim, que no grupo que fez suplementação há uma relação inversa entre os níveis séricos de ácido fólico e a homocisteinemia, enquanto que o grupo que recebeu placebo manteve o nível sérico médio de ácido fólico, constatando-se um aumento da homocisteinemia.

Quanto à vitamina B12 considera-se que a sua carência na população idosa é relativamente comum e que em grande parte não é diagnosticada.³⁸ Porém, no que respeita a investigação sobre o efeito isolado do reforço da ingestão de vitamina B12 no risco de desenvolvimento de DA, Dangour A *et al.* (2015)³⁸ referem que há pouca evidência sólida. De acordo com Correia A *et al.* (2015)² alguns ensaios clínicos não randomizados em pessoas com baixas concentrações de vitamina B12 sugerem que a sua suplementação melhora a performance cognitiva. Contudo, os resultados da investigação levada a cabo pela *Health Quality Ontario* não estão de acordo com essa informação, pois verificou-se que a suplementação com vitamina B12 não alterou consideravelmente a função cognitiva.³⁹ Dangour A *et al.* (2015)³⁸ também referem que, de acordo com os resultados do seu ensaio clínico randomizado e duplamente cego que procurou investigar os efeitos benéficos da suplementação com vitamina B12 na função neurológica em idosos com 75 anos ou mais e com deficiência

moderada de vitamina B12 (107-210 pmol/L), a correção da deficiência moderada de vitamina B12 não teve efeitos benéficos sobre a função cognitiva.

Apesar da controvérsia que parece existir, o que deve ser tido em consideração é que, o déficit de vitamina B12 torna o organismo potencialmente mais suscetível às manifestações associadas à sua carência, na presença duma alta ingestão de ácido fólico. Deste modo, é de todo importante ter em consideração não só uma ingestão adequada das doses necessárias de ácido fólico mas também de vitamina B12.³⁰

No que diz respeito à suplementação conjunta com ácido fólico e vitamina B12 parece existir também alguma ambiguidade. Por exemplo, Clarke R *et al.* (2014)⁴⁰ concluem na sua meta-análise realizada a partir 11 estudos, que não parece haver evidência de benefícios em termos de função cognitiva global com a suplementação de ácido fólico e vitamina B12, apesar de se verificar uma grande redução nos níveis de homocisteína. Porém analisando melhor esta meta-análise verifica-se que nem todos os estudos obtiveram esse resultado. Os próprios autores referem, na discussão do trabalho, que foi observada alguma heterogeneidade relativamente ao resultado do efeito da suplementação sobre o declínio cognitivo.⁴⁰ Portanto, houve de facto estudos que os autores analisaram, cujo resultado revelou existir melhoria da função cognitiva com a suplementação vitamínica. Poder-se-ia pensar também que a pouca atenção que é dada à vitamina B6 e, talvez por isso, não ter sido oferecida aos participantes dos estudos analisados na meta-análise supracitada, poderia comprometer os resultados. Contudo, McMahon JA *et al.* (2006)²² realizaram um ensaio clínico randomizado e duplamente cego, em que procederam a uma administração tripla diária de 10 mg de vitamina B6, 0,5 mg de B12 e 1 mg de ácido fólico durante 2 anos em idosos com uma idade média de 73 anos. Saliente-se que os participantes tinham um score no *Mini-Mental State Examination (MMSE)* de $29,19 \pm 0,97$, não sendo elegíveis participantes com suspeita de demência. Este estudo que tinha como finalidade avaliar o papel da suplementação dessas vitaminas na prevenção do declínio cognitivo, demonstrou

que a suplementação dessas 3 vitaminas não tem qualquer efeito positivo na manutenção da função cognitiva, porém, como se pode verificar na tabela 2, houve um aumento dos níveis séricos de ácido fólico e vitamina B12 que se relaciona inversamente com a homocisteinemia.²²

	Início do estudo		2 anos após	
	Grupo suplementado	Grupo placebo	Grupo suplementado	Grupo placebo
Ácido fólico sérico médio (nmol/L)	10	10	± 80	± 10
Vitamina B12 sérica média (pmol/L)	380	385	± 600	± 385
Homocisteína sérica média (µmol/L)	16,8	16,3	± 10	± 16

Tabela 2 – Níveis séricos médios de ácido fólico, vitamina B12 e homocisteína no início do estudo e 2 anos mais tarde.

Adaptado de: McMahon JA *et al.* (2006)²²

Em contrapartida, Smith AD *et al.* (2010)⁴¹ realizaram igualmente um ensaio clínico randomizado e duplamente cego, que teve por base perceber se a suplementação com 0,8 mg de ácido fólico, 0,5 mg de vitamina B12 e 20 mg de B6 diminui a atrofia cerebral, uma vez que esta é uma característica de indivíduos com comprometimento cognitivo que se converte em DA. Os participantes tinham uma idade média de 77 anos, tendo-se verificado que o grupo que recebeu suplementação teve uma diminuição do processo de atrofia cerebral e um decréscimo dos níveis de homocisteína.⁴¹ Os autores verificaram ainda que havia uma correlação entre os testes cognitivos aplicados no final do estudo e a taxa de atrofia cerebral, concluindo que a taxa de atrofia cerebral parece ser um dos principais determinantes do declínio cognitivo.⁴¹ Pela

análise da tabela 3 é também possível verificar que os níveis séricos de ácido fólico e vitamina B12 nos participantes que fizeram suplementação, aumentaram ao longo do estudo, correlacionando-se inversamente com a homocisteinemia, enquanto que no grupo que recebeu placebo os níveis séricos dessas duas vitaminas não sofreram alterações significativas, verificando-se uma elevação da homocisteinemia.

	Início do estudo		2 anos após	
	Grupo suplementado	Grupo placebo	Grupo suplementado	Grupo placebo
Ácido fólico sérico médio (nmol/L)	22,4	24,2	82,1	24,9
Vitamina B12 sérica média (pmol/L)	330	333	672	366
Homocisteína sérica média (µmol/L)	11,25	11,27	8,72	12,14

Tabela 3 – Níveis séricos médios de ácido fólico, vitamina B12 e homocisteína no início e no fim do estudo.

Adaptado de: Smith AD *et al.* (2010)⁴¹

Resultados semelhantes foram obtidos por Jager CA *et al.* (2012)⁴² num outro ensaio clínico randomizado e duplamente cego, em que participaram 266 indivíduos com uma idade média de 76 anos e com comprometimento cognitivo leve, a quem foi fornecido aleatoriamente e durante 2 anos placebo ou suplementação com 0,8 mg de ácido fólico, 0,5 mg de vitamina B12 e 20 mg de B6. Os autores verificaram uma redução dos níveis de homocisteína, que contribuiu para retardar a taxa de atrofia cerebral diminuindo assim, o declínio cognitivo.⁴² Pela

análise da tabela 4, salienta-se mais uma vez a relação inversa entre os níveis séricos de ácido fólico e vitamina B12 com a homocisteinemia.

	Início do estudo		2 anos após	
	Grupo suplementado	Grupo placebo	Grupo suplementado	Grupo placebo
Ácido fólico sérico médio (nmol/L)	22,6	23	83,8	24,9
Vitamina B12 sérica média (pmol/L)	332	324	690	348
Homocisteína sérica média (μmol/L)	11,3	11,6	8,7	12,4

Tabela 4 – Níveis séricos médios de ácido fólico, vitamina B12 e homocisteína no início e no fim do estudo.

Adaptado de: Jager CA *et al.* (2012)⁴²

É importante uma análise mais detalhada destes 3 últimos estudos apresentados, podendo a mesma ser feita com base na tabela 5. Recorde-se que no estudo de McMahon JA *et al.* (2006)²² concluiu-se que a suplementação não tem qualquer efeito sobre o declínio cognitivo e nos outros 2, Smith AD *et al.* (2010)⁴¹ e Jager CA *et al.* (2012)⁴², demonstrou-se o oposto, mas todos eles tiverem uma duração média de 2 anos, as doses de suplementação utilizadas foram semelhantes e as idades dos participantes eram em média 73 anos no primeiro estudo e 76/77 anos nos outros dois. Relativamente aos níveis séricos de homocisteína, ácido fólico e vitamina B12 entre os participantes verificam-se algumas diferenças.

	McMahon JA <i>et al.</i> (2006)²²		Smith AD <i>et al.</i> (2010)⁴¹		Jager CA <i>et al.</i> (2012)⁴²	
	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim
Ácido fólico sérico médio (nmol/L)	10	80	22,4	82,1	22,6	83,8
Vitamina B12 sérica média (pmol/L)	380	600	330	672	332	690
Homocisteína sérica média (µmol/L)	16,8	10	11,25	8,72	11,3	8,7
Conclusão	Sem efeito benéfico		Efeito benéfico		Efeito benéfico	

Tabela 5 – Comparação dos níveis séricos médios de ácido fólico, vitamina B12 e homocisteína entre 3 estudos.

Como é possível verificar na tabela 5, nos estudos de Smith AD *et al.* (2010)⁴¹ e Jager CA *et al.* (2012)⁴² a homocisteinemia inicial dos participantes era inferior em cerca de 5 µmol/L à dos participantes do estudo de McMahon JA *et al.* (2006)²² e no final, verificou-se também uma diferença de cerca de 1,3 µmol/L, continuando a homocisteinemia a ser inferior nos participantes dos estudos que relataram existir efeitos benéficos da suplementação sobre o declínio cognitivo. Não se pode concluir com toda a certeza que a ambiguidade dos resultados obtidos seja justificada por esses factos, mas verifica-se que no estudo em que não se obteve resultados benéficos com a suplementação, os participantes tinham uma homocisteinemia inicial acima do limite superior do normal, mais precisamente uma hiperhomocisteinemia moderada (15 a 30 µmol/L). Por seu lado, nos dois estudos que relatam efeitos benéficos da suplementação sobre a função cognitiva, a homocisteinemia inicial dos participantes estava dentro do intervalo da normalidade. Saliente-se que de acordo com Wang B *et al.* (2014)⁸ as pessoas com níveis plasmáticos elevados de homocisteína têm um risco cerca de duas vezes superior de desenvolver DA. Portanto, apesar da diminuição da homocisteinemia para valores

considerados normais nos participantes do estudo que revelou não haver efeitos benéficos, parece que essa diminuição não é suficiente para reverter os efeitos prejudiciais da hiperhomocisteinemia ao longo dos anos, nomeadamente a diminuição do número de neurónios, a formação das placas de $A\beta$ e dos emaranhados neurofibrilares. No que respeita aos estudos que relataram haver efeitos benéficos com a suplementação, pode-se considerar que nas pessoas com uma homocisteína sérica dentro da normalidade, a suplementação com ácido fólico e vitamina B12 permite diminuir os níveis de homocisteína, o que se traduz numa melhoria da função cognitiva.

Portanto, apesar de ser difícil retirar conclusões que permitam generalizar à população, aparentemente a suplementação com ácido fólico e vitamina B12 parece reduzir o risco de desenvolvimento de DA, podendo mesmo julgar-se que o reforço da ingestão vitamínica deve ser feito precocemente no ciclo de vida do indivíduo, de modo a garantir a manutenção duma homocisteinemia dentro do normal. Salienta-se ainda que a diminuição dos níveis séricos de homocisteína, através do recurso à suplementação com ácido fólico e vitamina B12, foi demonstrada por todos os estudos, sem exceção.

Continuando a comparar mais detalhadamente os resultados dos estudos abordados, verifica-se que no estudo que refere não haver efeito benéfico com a suplementação, o ácido fólico sérico inicial dos participantes é menos de metade do que o dos participantes dos estudos que relatam efeitos benéficos, estando mesmo ligeiramente abaixo do limite inferior da normalidade. Relativamente aos níveis séricos de vitamina B12, estes eram semelhantes entre os participantes dos 3 estudos quer no início, quer no fim. Analisando estes dados e os abordados anteriormente em relação aos níveis de homocisteinemia, verifica-se que o estudo que revelou não haver efeitos benéficos, é aquele cujos valores basais apresentados pelos participantes no início do estudo vão de encontro ao demonstrado por Smith AD (2008)¹⁹,

nomeadamente que os doentes com DA apresentam níveis séricos de ácido fólico de 15,2 nmol/L, níveis séricos de vitamina B12 de 215 pmol/L e uma homocisteinemia de 16,3 μ mol/L.

Portanto, de acordo com a análise anterior acerca dos valores da homocisteína sérica nos participantes dos estudos, parece confirmar-se como já foi referido, que níveis mais elevados de homocisteína associam-se a défice de ácido fólico e vitamina B12. Por outro lado, verifica-se que a suplementação com ácido fólico e vitamina B12, permite reduzir a homocisteinemia. Neste caso, analisando proporcionalmente a elevação sérica do ácido fólico e da vitamina B12 entre o início e o final dos estudos considerados, percebe-se que houve um aumento entre 4 a 8 vezes para o ácido fólico sérico, dependendo do estudo, e de cerca do dobro para a vitamina B12 em todos os estudos. Juntando todos os dados, parece ser plausível considerar-se que uma ingestão diária de cerca de 800 μ g de ácido fólico, perante concentrações séricas normais de vitamina B12 pode associar-se a redução/prevenção do declínio cognitivo. Contudo, é necessário manter uma ingestão reforçada de ácido fólico ao longo da vida, de modo a garantir uma homocisteinemia normal e assim permitir uma redução do risco de desenvolvimento de DA.

Relativamente às situações em que a DA já está instalada os efeitos da suplementação são controversos. De acordo com Correia A *et al.* (2015)², alguns estudos revelam que não existe efeito benéfico na redução do declínio cognitivo através do recurso à suplementação com vitaminas do complexo B, ao passo que outros estudos demonstram poder haver algum benefício, principalmente em pessoas com homocisteinemia mais elevada, ou que tomem inibidores das colinesterases. Porém, o principal objetivo desta revisão é perceber se a dieta mediterrânica fornece a quantidade necessária de ácido fólico e vitamina B12 que permite manter as concentrações séricas destes micronutrientes em níveis que demonstrem estarem associados à diminuição do risco de desenvolvimento de DA.

DIETA MEDITERRÂNICA E DOENÇA DE ALZHEIMER – Teor em ácido fólico, vitamina B12 e relação com homocisteinemia

A alimentação é atualmente associada ao risco de desenvolvimento de algumas doenças e, por conseguinte, mudanças no tipo de alimentação podem assumir um importante papel na etiologia, prevenção ou controlo dessas doenças.⁴⁵ Assim, verifica-se que em muitas prescrições médicas a primeira recomendação terapêutica é a adesão a uma alimentação saudável. As recomendações da OMS sobre um padrão alimentar saudável assentam numa dieta rica em alimentos de origem vegetal como legumes, fruta fresca, frutos oleaginosos, cereais integrais e azeite.⁴³ São privilegiadas as gorduras insaturadas, em detrimento das gorduras saturadas e por isso, é dada preferência ao consumo de peixe e a uma baixa ingestão de carnes vermelhas, fazendo também parte uma ingestão moderada de produtos lácteos e um consumo regular mas moderado de vinho tinto a acompanhar as refeições, no fundo, este padrão alimentar vai de encontro à dieta mediterrânica.⁴⁴⁻⁴⁶

A dieta mediterrânica, descrita pela primeira vez por Ancel Keys há mais de 50 anos, é hoje considerada um modelo dietético devido à forte evidência do seu contributo na redução do risco de doença cardiovascular, comparativamente com o estilo de alimentação de populações de outras áreas geográficas.^{45,46} Para além da doença cardiovascular, os efeitos benéficos da dieta mediterrânica têm sido também atestados na prevenção de outras doenças, tais como diabetes *mellitus* tipo 2 e cancro colo-retal.⁴⁵ A dieta mediterrânica é assim, sinónimo duma dieta saudável devido aos seus efeitos benéficos na saúde, o que a tornou alvo de vários estudos que procuram perceber se a sua implementação em países não mediterrânicos confere a mesma salubridade e inclusive se pode ter também um carácter preventivo relativamente a outras doenças crónicas.^{47,48}

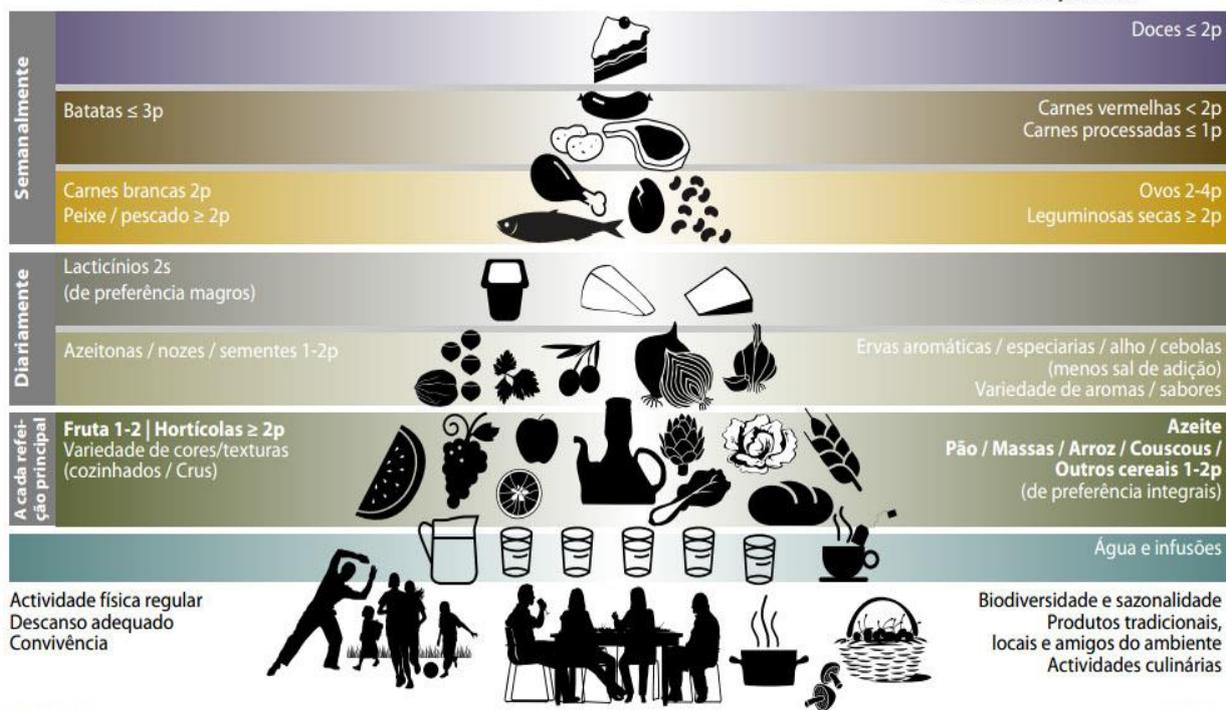
É necessário ter presente que a dieta mediterrânea é muito mais do que um padrão alimentar, pois além de envolver aspetos nutricionais reveste-se de um cariz cultural, histórico, ambiental e social característico. Abordar a dieta mediterrânea é falar num conceito multifacetado centrado no bem-estar biopsicossocial do indivíduo e é falar num resultado histórico do estilo de vida da área geográfica do mediterrâneo.^{46, 49} Percebe-se assim, que parece ser difícil a adoção da dieta mediterrânea em todas as suas dimensões, em populações de outras áreas geográficas. Nesse sentido, como é possível perceber na figura 2, as últimas atualizações à pirâmide da dieta mediterrânea incorporaram recomendações culturais e de estilo de vida, com o intuito de alcançar a maior proximidade possível ao padrão alimentar mediterrânico e assim, obter o máximo de benefícios para a saúde.

A Pirâmide da Dieta Mediterrânea: um estilo de vida para os dias de hoje
Recomendações para a população adulta

Porções de alimentos baseadas na frugalidade e nos hábitos locais



Vinho em moderação e de acordo com as crenças sociais



Edição de 2010

P= Porção

Figura 2. Pirâmide da Dieta Mediterrânea.

Pinho I et al. (2016)⁴⁶

Entre as várias doenças em que é investigado o possível papel preventivo da dieta mediterrânica encontra-se a DA e segundo Tangney CC *et al.* (2011)⁴⁸, os resultados do seu estudo que incluiu 3.790 participantes com idade superior ou igual a 65 anos, cuja função cognitiva foi avaliada de acordo com a adesão à dieta mediterrânica, demonstraram que esta dieta pode reduzir o declínio cognitivo em idosos. Também Scarmeas N *et al.* (2009)⁵⁰ realizaram um estudo com 1.939 participantes de diferentes etnias, residentes em Nova Iorque, tendo como objetivo analisar a associação entre a adesão à dieta mediterrânica e o risco de desenvolvimento de declínio cognitivo leve e sua progressão para DA, verificando que uma maior adesão à dieta mediterrânica está associada a redução do risco de desenvolvimento de declínio cognitivo e DA. Salienta-se ainda a conclusão de Gardener S *et al.* (2012)⁴⁷ relativamente a seu estudo realizado na Austrália com 1.112 participantes, em que constataram que pessoas com declínio cognitivo leve e DA têm menor adesão à dieta mediterrânica. Os autores deste estudo reforçam o facto da coorte estudada ser constituída por residentes na Austrália, pelo que é improvável que cumpram rigorosamente uma dieta típica dos países mediterrânicos e por isso, a adesão ao padrão de dieta mediterrânica no seu todo pode ser significativamente menor quando comparada com populações do Mediterrâneo.⁴⁷ Assim, uma elevada adesão à dieta mediterrânica na Austrália pode ser potencialmente equiparada com uma baixa adesão a esta dieta por parte de populações do Mediterrâneo, acrescentando também os autores que, com base nos resultados do seu estudo, parece ficar demonstrado que os efeitos benéficos da dieta mediterrânica podem ser transferíveis para outras populações.⁴⁷

Dados duma revisão sistemática realizada por Singh B *et al.* (2014)⁵¹ apontam para que indivíduos com maior adesão à dieta mediterrânica têm menos 33% de risco de declínio cognitivo e de DA comparativamente com indivíduos com menor adesão. Portanto, parece haver evidência de que a dieta mediterrânica pode ter um carácter neuroprotetor contra o declínio cognitivo e a DA, mas os autores referem que são necessários estudos de maior duração para

avaliar aprofundadamente e de forma mais fidedigna esse efeito neuroprotetor.⁵¹ No entanto, existem alguns estudos que não atestam o caráter protetor da dieta mediterrânica face ao risco de desenvolvimento de DA, como é o caso do estudo de Cherbuin N *et al.* (2012)⁵² realizado na Austrália, com 1528 participantes com idades entre os 60 e os 64 anos, seguidos durante 4 anos e onde se verificou que uma maior adesão à dieta mediterrânica não conferiu proteção contra o comprometimento cognitivo. Contudo, analisando melhor este estudo verifica-se que apenas 66 dos 1528 participantes desenvolveram deterioração da função cognitiva, o que não parece ser um número suficiente para garantir um bom poder estatístico. Se juntarmos a isso o facto de se tratar duma coorte não mediterrânica e da avaliação da adesão à dieta mediterrânica se basear em questionários de frequência alimentar, o poder dos resultados obtidos por este estudo parece tornar-se ainda menor. É necessário ter em consideração que pode haver preferências muito diferentes entre populações do mediterrâneo e de países não mediterrânicos, como por exemplo, na escolha dos produtos hortícolas e na sua forma de confeção, o que influencia o efeito benéfico para a saúde que é associado ao consumo de legumes.⁵³ Um exemplo disso é o ácido fólico, uma vez que o seu nível nos alimentos após confeção é influenciado pelas práticas culinárias. O ácido fólico é termolábil e solúvel em água, por isso, durante a confeção, facilmente se pode libertar dos alimentos e ficar na água.⁵³ Além disso, os níveis de ácido fólico variam amplamente entre os legumes, sendo que esta vitamina encontra-se principalmente em vegetais de folhas verdes como os brócolos, espinafres e couve.⁵³ Portanto, os níveis de ácido fólico não se relacionam somente com a quantidade de vegetais ingeridos e por isso, não são necessariamente refletidos através de estudos que se baseiam em escalas de avaliação da adesão à dieta mediterrânica ou questionários de frequência alimentar em populações não-mediterrânicas.⁴⁴

Os mecanismos subjacentes à dieta mediterrânica, que são apontados como possíveis responsáveis pela redução do risco de desenvolvimento de DA, são vários. Por exemplo, é

associado à dieta mediterrânea um importante poder antioxidante, conferido principalmente por alimentos como legumes, frutas, azeite e vinho tinto.^{47, 51} Sendo o stress oxidativo considerado um fator de risco para a DA, percebe-se a importância do poder antioxidante desses alimentos, uma vez que permite neutralizar as espécies reativas de oxigênio, diminuindo ou até possivelmente eliminando este fator de risco.^{47, 51} Outro mecanismo relaciona-se com o facto do papel neuroprotetor da dieta mediterrânea poder ser mediado pela atenuação da via da inflamação, pois de acordo com a evidência científica um estado pró-inflamatório é associado a maior risco de DA, tendo-se constatado que uma maior adesão à dieta mediterrânea está associada a níveis mais baixos de proteína C reativa e de interleucinas.^{47, 51} A homocisteína é também considerada um parâmetro inflamatório e de acordo com Višekruna I *et al.* (2015)⁴⁴ estudos epidemiológicos e clínicos têm demonstrado que indivíduos que seguem a dieta mediterrânea apresentaram menores níveis de homocisteinemia. Portanto, a grande maioria dos estudos realizados aponta para que uma maior adesão à dieta mediterrânea parece diminuir o risco de desenvolvimento de DA.

Višekruna I *et al.* (2015)⁴⁴ desenvolveram um estudo realizado na Croácia, país que segue um padrão de dieta mediterrânea, e que tinha como objetivo determinar a correlação entre a dieta mediterrânea e os níveis séricos de homocisteína, ácido fólico e vitamina B12, tendo recorrido para isso, a 237 participantes croatas com idades entre os 25 e os 93 anos. Os autores verificaram que a adesão à dieta mediterrânea mostrou uma correlação direta com os níveis séricos de ácido fólico e vitamina B12 e indireta com os níveis de homocisteinemia⁴⁴

De acordo com os resultados de um estudo de caso-controlo desenvolvido por Vujkovic M *et al.* (2009)⁵⁵ que demonstraram uma associação inversa entre o padrão alimentar mediterrânico e a homocisteína sérica, os autores concluíram que a dieta mediterrânea reduz a hiperhomocisteinemia e o stress oxidativo. Analisando os resultados deste estudo, verificou-se que a homocisteinemia dos participantes com maior adesão à dieta mediterrânea foi em média

10,3 $\mu\text{mol/L}$, como é possível perceber na tabela 6. Os autores do estudo referem ainda que uma elevada adesão ao padrão alimentar mediterrânico correlaciona-se com níveis séricos mais elevados de ácido fólico e vitamina B12, como se pode observar também na tabela 6.⁵⁵

	Grupo com menor adesão	Grupo com maior adesão
Ácido fólico sérico médio (nmol/L)	12,7	19,9
Vitamina B12 sérica média (pmol/L)	219	320
Homocisteína sérica média ($\mu\text{mol/L}$)	11,7	10,3

Tabela 6 – Comparação entre os níveis séricos médios de ácido fólico, vitamina B12 e homocisteína nos grupos com menor e maior adesão à dieta mediterrânica

Adaptado de: Vujkovic M *et al.* (2009)⁵⁵

Noutro estudo, realizado por Bach-Faig A *et al.* (2006)⁵⁶, que teve como objetivo avaliar as associações entre dois índices de adesão à dieta mediterrânica (questionários de frequência alimentar) e vários biomarcadores sanguíneos relacionados com a dieta, entre os quais o ácido fólico e vitamina B12, participaram 328 voluntários da Catalunha, com idades entre os 18 e os 75 anos, a quem foram colhidas amostras de sangue em jejum. Os autores constataram que a dieta mediterrânica confere concentrações plasmáticas elevadas de alguns dos biomarcadores examinados, tendo sido atribuído particular destaque ao ácido fólico.⁵⁶ Na tabela 7 é possível perceber os níveis séricos médios de ácido fólico e vitamina B12 alcançados nos indivíduos com maior adesão à dieta mediterrânica. Quanto aos níveis de vitamina B12, os autores do estudo referem que concentrações plasmáticas baixas são raras, uma vez que a vitamina B12 é

abundante nos alimentos de origem animal e é armazenada em quantidades significativas no organismo.⁵⁶

	Grupo com maior adesão
Ácido fólico sérico médio (nmol/L)	21,7
Vitamina B12 sérica média (pmol/L)	459

Tabela 7 – Níveis séricos médios de ácido fólico e vitamina B12 em indivíduos com maior adesão à dieta mediterrânea.

Adaptado de: Bach-Faig A *et al.* (2006)⁵⁶

O estudo de Feart C *et al.* (2012)⁵⁷ permite ter a noção da dose diária de ácido fólico e vitamina B12 que a dieta mediterrânea pode fornecer, uma vez que descreveu a associação entre a adesão à dieta mediterrânea e a ingestão de alguns macronutrientes e micronutrientes. Deste modo, os autores verificaram que uma maior adesão a esta dieta associa-se a maior ingestão de vários micronutrientes, entre os quais o ácido fólico.⁵⁷ Na tabela 8 apresentam-se as doses diárias de ácido fólico e vitamina B12 que uma boa adesão à dieta mediterrânea permite fornecer, com base nos resultados do estudo de Feart C *et al.* (2012)⁵⁷. São também comparadas essas doses fornecidas com as necessidades diárias de ácido fólico e vitamina B12 para um adulto de acordo com Longo D *et al.* (2015)²⁸, verificando-se que a dieta mediterrânea parece assegurar largamente essas necessidades.

	Dose diária fornecida pela dieta mediterrânica	Necessidades diárias
Ácido fólico (µg)	326	100
Vitamina B12 (µg)	6	1 a 3

Tabela 8 – Comparação entre a dose diária de ácido fólico e vitamina B12 fornecidos pela dieta mediterrânica e as suas necessidades diárias.

Adaptado de: Feart C *et al.* (2012)⁵⁷ e Longo D *et al.* (2015)²⁸

Concluindo, de acordo com Roman B *et al.* (2008)⁵⁸ o padrão alimentar mediterrânico assegura uma adequada ingestão de determinados nutrientes que foram relacionados de alguma forma com um risco reduzido de várias doenças crónicas, tendo sobretudo interesse para o presente artigo de revisão, a constatação, que uma maior adesão à dieta mediterrânica assegura uma ingestão de ácido fólico e vitamina B12 que pode exercer efeitos benéficos sobre a saúde mental, nomeadamente diminuir o risco de desenvolvimento de DA. Em suma, verifica-se que vários estudos atestam o carácter neuroprotetor da dieta mediterrânica e por conseguinte, a diminuição do risco de desenvolvimento de DA. Constata-se também, que a dieta mediterrânica assegura um elevado consumo de ácido fólico e vitamina B12, permitindo o aumento dos seus níveis séricos. Além disso, verifica-se ainda que existe uma associação inversa entre a adesão ao padrão alimentar mediterrânico e os níveis séricos de homocisteína.

DISCUSSÃO e CONCLUSÃO

O envelhecimento tem um risco acrescido de patologias que podem reduzir a qualidade dos últimos anos de vida. Atualmente, com os ganhos atingidos em longevidade e com uma população cada vez mais envelhecida, a incidência e prevalência dessas patologias é cada vez maior. Uma delas é a DA esporádica, que tem fatores de risco modificáveis e não modificáveis como a idade, o gênero e a genética. Como ficou patente ao longo do presente artigo de revisão, a hiperhomocisteinemia é um forte fator de risco independente para a DA que pode ser modificado, podendo as pessoas com níveis plasmáticos elevados de homocisteína ter um risco cerca de 2 vezes superior de desenvolver DA.⁸ Embora os mecanismos fisiopatológicos que ligam a homocisteína e DA não estejam ainda totalmente clarificados, tem-se demonstrado que a hiperhomocisteinemia contribui para a disfunção endotelial, o que tem repercussões a nível da irrigação cerebral e contribui também para o aumento da produção de radicais livres de oxigênio, induzindo neurotoxicidade. Além disso, o stress oxidativo a nível neuronal e a hipoperfusão cerebral, potenciam a formação e deposição de $A\beta$, assim como a deposição de P-tau.²⁴

Como causa mais comum do aumento dos níveis séricos de homocisteína é apontado o status vitamínico, nomeadamente a carência em vitaminas do complexo B que participam no metabolismo da homocisteína, de modo particular o ácido fólico e a vitamina B12. Por isso, considera-se que um nível elevado de homocisteína é o marcador mais importante do déficit de ácido fólico e vitamina B12.¹⁶

Pela análise dos vários estudos apresentados no presente artigo de revisão, a maior parte da evidência científica mais robusta aponta para que níveis elevados de homocisteína e baixos níveis de ácido fólico e/ou vitamina B12 são encontrados na DA e, mais importante do que isso, estão associados ao aumento do risco de desenvolvimento de DA. Um baixo nível de vitamina B12 na presença de um nível elevado de ácido fólico parece ser também um importante fator

de risco, pelo que a suplementação isolada de ácido fólico pode não ser benéfica. Neste caso, pensa-se que um nível elevado de ácido fólico possa exacerbar o efeito prejudicial da deficiência de vitamina B12 no declínio cognitivo.

Relativamente ao défice isolado de vitamina B12, verifica-se que a investigação sobre os efeitos benéficos do seu reforço alimentar na redução do declínio cognitivo é escassa, além de que os estudos existentes apresentam resultados ambíguos.³⁸

Em relação ao reforço com ácido fólico, os estudos analisados demonstraram que uma ingestão diária de cerca de 800 µg de ácido fólico, perante concentrações séricas normais de vitamina B12 parece associar-se a redução do declínio cognitivo. Contudo, nos estudos que investigam o efeito conjunto do reforço da ingestão de ácido fólico, vitamina B12 e alguns deles também de vitamina B6, verifica-se existir alguma controvérsia. Deste modo, os estudos que referem não haver qualquer efeito da suplementação conjunta sobre a função cognitiva, colocam em causa os resultados dos estudos que investigaram o ácido fólico isoladamente, uma vez que todos eles demonstraram que a suplementação com ácido fólico por si só, parece reduzir o declínio cognitivo. Assim, pode-se questionar porque é que o ácido fólico em conjunto com a vitamina B12 e também com a vitamina B6, não obtém o mesmo resultado? É necessária por isso, uma análise mais minuciosa dos diferentes estudos. Começando pela análise mais detalhada que foi efetuada acerca da meta-análise de Clarke R *et al.* (2014)⁴⁰ realizada a partir de 11 estudos e que concluiu não haver evidência de que a suplementação com ácido fólico e vitamina B12 tem benefício na redução do declínio cognitivo, verificou-se que nem todos os estudos considerados nessa meta-análise obtiveram esse resultado. Houve de facto trabalhos que os autores analisaram, cujo resultado revelou existir melhoria da função cognitiva com a suplementação dessas vitaminas. Passando para a análise comparativa que foi realizada tendo por base o estudo de McMahon JA *et al.* (2006)²², no qual se conclui não haver efeito benéfico da suplementação de ácido fólico e vitamina B12 sobre a função cognitiva, e os estudos de

Smith AD *et al.* (2010)⁴¹ e Jager CA *et al.* (2012)⁴², que obtiveram resultados opostos, é difícil retirar conclusões que permitam generalizar à população embora, aparentemente, se possa considerar que nas pessoas com uma homocisteína sérica dentro da normalidade, a suplementação com ácido fólico e vitamina B12 permite reduzir ainda mais os níveis de homocisteína, contribuindo assim, para uma diminuição do processo de atrofia cerebral e, por conseguinte, para o retardar do declínio da função cognitiva.

Portanto, a suplementação com ácido fólico e vitamina B12 parece ter potencialidade para reduzir o risco de desenvolvimento de DA, julgando-se que o reforço da ingestão vitamínica deve ser feito precocemente no ciclo de vida do indivíduo, de modo a garantir a manutenção duma homocisteinemia dentro dos parâmetros normais ao longo da vida. De acordo com a análise que foi efetuada acerca do estudo de McMahon JA *et al.* (2006)²², parece ser admissível a hipótese de que a diminuição duma homocisteinemia que permaneceu elevada durante um longo período possa não ser suficiente para reverter as alterações que induziu ao longo dos anos. Admitindo esta hipótese, seria interessante proceder-se a um estudo em que participassem voluntários com diferentes níveis de hiperhomocisteinemia e, se possível, que fosse conhecido há quanto tempo os participantes apresentavam esses níveis elevados. O objetivo seria perceber por um lado, até que nível de hiperhomocisteinemia seria possível reverter os seus efeitos prejudiciais sobre o declínio cognitivo e por outro lado, se com uma suplementação durante um período de tempo maior, era possível verificar-se essa redução do declínio cognitivo também nos participantes com níveis mais elevados de homocisteinemia. A dificuldade maior neste estudo poderia residir em esclarecer há quanto tempo os participantes apresentavam hiperhomocisteinemia.

Resumindo, no presente artigo de revisão verificou-se que tem sido demonstrado que uma ingestão diária ao longo da vida de cerca de 800 µg de ácido fólico, perante concentrações séricas normais de vitamina B12, garante níveis de homocisteína plasmática dentro dos valores

da normalidade e, por conseguinte, parece associar-se a redução/prevenção do declínio cognitivo e portanto, do risco de desenvolvimento de DA. Salienta-se que a redução da homocisteinemia conseguida pela suplementação de ácido fólico e vitamina B12 foi transversal a todos os estudos analisados. Releve-se também, que apesar da ambiguidade dos resultados dos estudos que existem sobre a suplementação isolada de vitamina B12, o seu reforço é importante uma vez que assegura níveis séricos normais, impedindo assim uma das condições que demonstrou associar-se a maior risco de desenvolvimento de DA, nomeadamente níveis séricos baixos de vitamina B12 na presença de níveis elevados de ácido fólico.

No sentido de perceber o teor em vitamina B12 e ácido fólico fornecidos pela dieta mediterrânica e se esse teor disponibilizado pode contribuir para a redução dos níveis séricos de homocisteína, verifica-se, em primeiro lugar, que a dieta mediterrânica permite uma ingestão diária de cerca de 326 µg de ácido fólico e de 6 µg de vitamina B12, assegurando largamente as necessidades diárias dessas vitaminas. No entanto, constata-se que esta dose de ácido fólico fica muito aquém dos 800 µg oferecidos sob a forma de suplemento nos vários estudos descritos sobre o efeito benéfico da suplementação no declínio cognitivo. Contudo, a dieta mediterrânica, tal como esses estudos, permite uma redução dos níveis séricos de homocisteína. Verifica-se porém, que nos estudos com suplementação, se obteve uma redução da homocisteína para valores entre 8,7 e 10 µmol/L, consoante o estudo, enquanto nos estudos sobre a dieta mediterrânica a homocisteína desceu para 10,3 µmol/L. Portanto, apesar da dieta mediterrânica não assegurar uma redução da homocisteinemia para valores exatamente iguais aos conseguidos pela suplementação, confirma-se que o teor de vitamina B12 e ácido fólico fornecidos pela dieta mediterrânica permite diminuir a homocisteinemia para valores dentro da normalidade e que não ficam muito distantes dos níveis conseguidos pela suplementação. Além disso, comprova-se que a redução da homocisteinemia conseguida pela dieta mediterrânica, ocorre na presença do aumento da concentração sérica de ácido fólico e vitamina B12. Porém, comparando esse

aumento com o que é conseguido pela suplementação, verifica-se uma grande diferença: enquanto a suplementação permite atingir um ácido fólico sérico entre 76 a 83,8 nmol/L e uma vitamina B12 sérica entre 600 a 690 pmol/L, a dieta mediterrânea não vai além dos 21,71 nmol/L para o ácido fólico e dos 459 pmol/L para a vitamina B12. Apesar da dieta mediterrânea não assegurar níveis tão elevados quanto a suplementação, o que parece importar é que as concentrações séricas de ácido fólico e vitamina B12 conseguidas pela dieta mediterrânea, asseguram uma homocisteinemia dentro dos valores normais, permitindo assim modificar este reconhecido fator de risco para o desenvolvimento de DA, que é a hiperhomocisteinemia. Estes dados são corroborados pela maioria dos estudos realizados sobre a dieta mediterrânea e a DA que foram apresentados no presente artigo de revisão, uma vez que concluem que a adesão à dieta mediterrânea tem um caráter neuroprotetor, diminuindo o risco de declínio cognitivo e sua progressão para DA.

Contudo, apesar de se chegar à conclusão que a dieta mediterrânea tem potencial para se assumir como um fator modificador na associação conhecida entre DA e homocisteína, esta afirmação carece de trabalhos de investigação de longa duração, realizados com grandes amostras e preferencialmente com populações mediterrâneas. Esses estudos serão importantes para a obtenção de resultados sólidos e consensuais que possam comprovar que os níveis séricos de ácido fólico e vitamina B12 proporcionados pela adesão à dieta mediterrânea permitem reduzir o risco de desenvolvimento de DA. Saliente-se também, que no estado do conhecimento atual ainda não é possível recomendar a suplementação com ácido fólico e/ou vitamina B12 de forma generalizada, sem que seja detetada ou suspeita a sua deficiência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization. Dementia [document on the Internet]. Genebra: WHO; 2016 [cited 2016 May 22]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs362/en/>
2. Correia A, Filipe J, Santos A, Graça P. Nutrição e Doença de *Alzheimer*. Direção-Geral da Saúde. Lisboa; 2015
3. World Health Organization. The top ten causes of death [document on the Internet]. Genebra: WHO; 2014 [updated 2014 May; cited 2016 May 22]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/>
4. Instituto Nacional de Estatística. Risco de morrer - 2012. Lisboa: INE; 2014.
5. Santana I, Farinha F, Freitas S, Rodrigues V, Carvalho A. Epidemiologia da Demência e da Doença de *Alzheimer* em Portugal: Estimativas da Prevalência e dos Encargos Financeiros com a Medicação. *Acta Med Port.* 2015; 28 (2): 182-188
6. Instituto Nacional de Estatística. Dia mundial da população. Lisboa: INE; 2014.
7. Chen H, Liu S, Ji L, Wu T, Ma F, Ji Y, et al. Associations between *Alzheimer's* disease and blood homocysteine, vitamin B12, and folate: a case-control study. *Curr Alzheimer Res.* 2015; 12 (1): 88-94
8. Wang B, Zhong Y, Yan H, Cui L. Meta-analysis of plasma homocysteine content and cognitive function in elderly patients with *Alzheimer's* disease and vascular dementia. *Int J Clin Exp Med.* 2014; 7 (12): 5118-23
9. Višekruna I, Rumbak I, Samarin IR, Keser I, Ranilović J. Homocysteine Levels Show Significant differences among Mediterranean Dietary Quality Index Variables Compared to

Folate and Vitamin B 12 Status in Women. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 2015; 85 (3-4): 202 – 10

10. Monteagudo C, Mariscal-Arcas M, Palacin A, Lopez M, Lorenzo M, Olea-Serrano F. Estimation of dietary folic acid intake in three generations of females in Southern Spain. *Appetite* 2016; 67: 114–118
11. Rai V. Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) C677T Polymorphism and *Alzheimer* Disease Risk: a Meta-Analysis. *Mol Neurobiol.* 2016
12. Popp J, Lewczuk P, Linnebank M, Cvetanovska G, Smulders Y, Kölsch H, et al. Homocysteine Metabolism and Cerebrospinal Fluid Markers for *Alzheimer's* Disease. *Journal of Alzheimer's Disease* 2009; 18 (4): 819-28
13. Ballard C, Gauthier S, Corbett A, Brayne C, Aarsland D, Jones E. *Alzheimer's* disease. *Lancet.* 2011; 377 (9770): 1019-31
14. Beydoun M, Beydoun H, Gamaldo A, Teel A, Zonderman A, Wang Y. Epidemiologic studies of modifiable factors associated with cognition and dementia: systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health.* 2014; 14: 643
15. Cardoso I. Homocisteína e doença cardiovascular. *Revista da Faculdade de Ciências da Saúde.* Porto: Edições Universidade Fernando Pessoa. ISSN 1646 – 0480. 6 (2009) 198 – 206
16. Brustolin S, Giugliani R, Félix T. Genetics of homocysteine metabolism and associated disorders. *Braz J Med Biol Res.* 2010; 43 (1): 1-7
17. Berg J, Tymoczko J, Stryer L. *Biochemistry.* 5th Edition. New York: W.H. Freeman, 2002. 700-702

18. Kennedy D. B Vitamins and the Brain: Mechanisms, Dose and Efficacy - A Review. *Nutrients*. 2016; 8 (2): 68
19. Smith AD. The worldwide challenge of the dementias: a role for B vitamins and homocysteine? *Food Nutr Bull*. 2008; 29 (2): 143-72
20. McCully K. Chemical pathology of homocysteine. V. Thioretinamide, thioretinaco, and cystathionine synthase function in degenerative diseases. *Ann Clin Lab Sci*. 2011; 41 (4): 301-14
21. Polito L, Poloni T, Vaccaro R, Abbondanza S, Mangieri M, Davin A et al. High homocysteine and epistasis between MTHFR and APOE: association with cognitive performance in the elderly. *Exp Gerontol*. 2016; 76: 9-16
22. McMahon JA, Green TJ, Skeaff CM, Knight RG, Mann JI, Williams SM. A controlled trial of homocysteine lowering and cognitive performance. *N Engl J Med*. 2006; 354 (26): 2764-72
23. Clarke R, Birks J, Nexo E, Ueland PM, Schneede J, Scott J et al. Low vitamin B-12 status and risk of cognitive decline in older adults. *Am J Clin Nutr*. 2007; 86 (5): 1384-91
24. Smith AD, Refsum H. Homocysteine, B Vitamins, and Cognitive Impairment. *Annu Rev Nutr*. 2016; 36: 211-39
25. Wen Y, Yang SH, Liu R, Perez EJ, Brun-Zinkernagel AM, Koulen P et al. Cdk5 is involved in NFT-like tauopathy induced by transient cerebral ischemia in female rats. *Biochim Biophys Acta*. 2007; 1772 (4): 473-83

26. Hooshmand B, Polvikoski T, Kivipelto M, Tanskanen M, Myllykangas L, Erkinjuntti T et al. Plasma homocysteine, *Alzheimer* and cerebrovascular pathology: a population-based autopsy study. *Brain*. 2013; 136 (9): 2707-16
27. Lopes da Silva S, Vellas B, Elemans S, Luchsinger J, Kamphuis P, Yaffe K et al. Plasma nutrient status of patients with *Alzheimer's* disease: Systematic review and meta-analysis. *Alzheimers Dement*. 2014; 10 (4): 485-502
28. Longo D, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Jameson J, Loscalzo J. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 19ª Edição. New York: McGraw Hill, 2015.
29. Miller JW, Garrod MG, Allen LH, Haan MN, Green R. Metabolic evidence of vitamin B-12 deficiency, including high homocysteine and methylmalonic acid and low holotranscobalamin, is more pronounced in older adults with elevated plasma folate. *Am J Clin Nutr*. 2009; 90 (6): 1586-92
30. Morris M, Selhub J, Jacques P. Vitamin B-12 and Folate Status in Relation to Decline in Scores on the Mini-Mental State Examination in the Framingham Heart Study. *J Am Geriatr Soc*. 2012; 60 (8): 1457–1464
31. Mohajeri MH, Troesch B, Weber P. Inadequate supply of vitamins and DHA in the elderly: implications for brain aging and *Alzheimer*-type dementia. *Nutrition*. 2015;31 (2): 261-75
32. Van Dam F, Van Gool W. Hyperhomocysteinemia and *Alzheimer's* disease: A systematic review. *Archives of Gerontology and Geriatrics*. 2009; 48: 425–430
33. Araújo JR, Martel F, Borges N, Araújo JM, Keating E. Folates and aging: Role in mild cognitive impairment, dementia and depression. *Ageing Res Rev*. 2015; 22: 9-19

34. Köseoglu E, Karaman Y. Relations between homocysteine, folate and vitamin B12 in vascular dementia and in *Alzheimer* disease. *Clin Biochem*. 2007; 40 (12): 859-63
35. Morris MS, Jacques PF, Rosenberg IH, Selhub J. Folate and vitamin B-12 status in relation to anemia, macrocytosis, and cognitive impairment in older Americans in the age of folic acid fortification. *Am J Clin Nutr*. 2007; 85 (1): 193-200
36. de Lau LM, Refsum H, Smith AD, Johnston C, Breteler MM. Plasma folate concentration and cognitive performance: Rotterdam Scan Study. *Am J Clin Nutr*. 2007; 86 (3): 728-34
37. Durga J, van Boxtel MP, Schouten EG, Kok FJ, Jolles J, Katan MB et al. Effect of 3-year folic acid supplementation on cognitive function in older adults in the FACIT trial: a randomised, double blind, controlled trial. *Lancet*. 2007; 369: 208–216
38. Dangour A, Allen E, Clarke R, Elbourne D, Fletcher A, Letley L, Effects of vitamin B-12 supplementation on neurologic and cognitive function in older people: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*. 2015; 102 (3): 639–647
39. Health Quality Ontario. Vitamin B12 and cognitive function: an evidence-based analysis. *Ont Health Technol Assess Ser*. 2013; 13 (23): 1-45
40. Clarke R, Bennett D, Parish S, Lewington S, Skeaff M, Eussen SJ et al. Effects of homocysteine lowering with B vitamins on cognitive aging: meta-analysis of 11 trials with cognitive data on 22,000 individuals. *Am J Clin Nutr*. 2014; 100 (2): 657-66
41. Smith AD, Smith SM, de Jager CA, Whitbread P, Johnston C, Agacinski G et al. Homocysteine-lowering by B vitamins slows the rate of accelerated brain atrophy in mild cognitive impairment: a randomized controlled trial. *PLoS One*. 2010; 5 (9): 12244

42. de Jager CA, Oulhaj A, Jacoby R, Refsum H, Smith AD. Cognitive and clinical outcomes of homocysteine-lowering B-vitamin treatment in mild cognitive impairment: a randomized controlled trial. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2012; 27 (6): 592-600
43. World Health Organization. Healthy diet [document on the Internet]. Geneva: WHO; 2015 [updated 2015 September; cited 2016 October 14]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs394/en/>
44. Višekruna I, Rumbak I, Samarin IR, Keser I, Ranilović J. Homocysteine Levels Show Significant Differences among Mediterranean Dietary Quality Index Variables Compared to Folate and Vitamin B(12) Status in Women. *Int J Vitam Nutr Res*. 2015; 85 (3-4): 202-10
45. Bloomfield H, Kane R, Koeller E, Greer N, MacDonald R, Wilt TJ. Benefits and Harms of the Mediterranean Diet Compared to Other Diets. VA ESP Project #09-009; 2015
46. Pinho I, Rodrigues S, Franchini B, Graça P. Padrão Alimentar Mediterrânico: Promotor de Saúde. Direção-Geral da Saúde. Lisboa; 2016
47. Gardener S, Gu Y, Rainey-Smith SR, Keogh JB, Clifton PM, Mathieson SL et al. Adherence to a Mediterranean diet and *Alzheimer's* disease risk in an Australian population. *Transl Psychiatry*. 2012; 2: e164
48. Tangney CC, Kwasny MJ, Li H, Wilson RS, Evans DA, Morris MC. Adherence to a Mediterranean-type dietary pattern and cognitive decline in a community population. *Am J Clin Nutr*. 2011; 93 (3): 601-7
49. Athanasiadou E, Kyrkou C, Fotiou M, Tsakoumaki F, Dimitropoulou A, Polychroniadou E. Development and Validation of a Mediterranean Oriented Culture-Specific Semi-Quantitative Food Frequency Questionnaire. *Nutrients* 2016; 8 (9): 522

50. Scarmeas N, Stern Y, Mayeux R, Manly J, Schupf N, Luchsinger J. Mediterranean Diet and Mild Cognitive Impairment. *Arch Neurol*. 2009; 66 (2): 216–225
51. Singh B, Parsaik A, Mielke M, Erwinc P, Knopman D, Petersen R et al. Association of Mediterranean diet with Mild Cognitive Impairment and *Alzheimer's* disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Alzheimers Dis*. 2014; 39 (2): 271–282
52. Cherbuin N, Anstey KJ. The Mediterranean diet is not related to cognitive change in a large prospective investigation: the PATH Through Life study. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2012; 20 (7): 635-9
53. Hoffman R, Gerber M. Evaluating and adapting the Mediterranean diet for non-Mediterranean populations: a critical appraisal. *Nutr Rev*. 2013; 71 (9): 573-84
54. Stea TH, Mansoor MA, Wandel M, Uglem S, Frolich W. Changes in predictors and status of homocysteine in young male adults after a dietary intervention with vegetables, fruits and bread. *Eur J Nutr*. 2008; 47 (4): 201–209
55. Vujkovic M, Steegers EA, Looman CW, Ocké MC, van der Spek PJ, Steegers-Theunissen RP. The maternal Mediterranean dietary pattern is associated with a reduced risk of spina bifida in the offspring. *BJOG*. 2009; 116 (3): 408-15
56. Bach-Faig A, Geleva D, Carrasco J, Ribas-Barba L, Serra-Majem L. Evaluating associations between Mediterranean diet adherence indexes and biomarkers of diet and disease. *Public Health Nutr*. 2006; 9 (8A): 1110-7
57. Feart C, Alles B, Merle B, Samieri C, Barberger-Gateau P. Adherence to a Mediterranean diet and energy, macro-, and micronutrient intakes in older persons. *J Physiol Biochem*. 2012; 68 (4): 691-700

58. Roman B, Carta L, Ángel M, Martínez-González, Serra-Majem L. Effectiveness of the Mediterranean diet in the elderly. *Clin Interv Aging*. 2008; 3 (1): 97-109.
59. Coşar A, Ipçioğlu OM, Ozcan O, Gültepe M. Folate and homocysteine metabolisms and their roles in the biochemical basis of neuropsychiatry. *Turkish Journal of Medical Sciences*. 2014; 44 (1): 1-9
60. Bach-Faig A, Berry E, Lairon D, Reguant J, Trichopoulou A, Dernini S, et al. Mediterranean diet pyramid today. Science and cultural updates. *Public Health Nutr*. 2011; 14 (12A): 2274-84