

Hipocobalaminemia em cão - alterações hematológicas

Hypocobalaminemia in a Dog - Hematological Changes

Nathalia Saynovich Dutra Silveira¹, Bruno Webber Klaser¹, Anna Karinna Scortegagna Marques¹,
Márcio Machado Costa², Anna Carolina Miotto¹ & Naila Cristina Blatt Duda¹

ABSTRACT

Background: Cyanocobalamin is a water-soluble vitamin found mainly in foods of animal origin and is essential for synthesizing proteins, neurotransmitters and nucleic acid. Changes in the metabolism of this vitamin leading to hypocobalaminemia or deficiency are observed in gastrointestinal disorders or hereditary defects resulting in hematological, neurological or metabolic manifestations. This work aims to report the hematological changes resulting from hypocobalaminemia in a canine, diagnosed through the measurement of vitamin B12, folic acid and changes observed in the blood count and myelogram.

Case: A 5-year-old castrated male mixed breed dog, weighing 8.30 kg, was treated, with history of main complaint being halitosis and the presence of dental calculus, in addition to difficulty chewing and sporadic vomiting after exercise. In the hematological evaluation, metarubricytosis, the presence of megaloblastic rubrics, leukopenia due to neutropenia, hypersegmented neutrophils and erythrocyte morphological changes were demonstrated in the evaluation of the blood smear, such as macrocytosis with nuclear fragmentation, Cabot rings, basophilic stippling and siderotic inclusions. No changes were found in serum biochemistry, measurement of clotting times, and ultrasound evaluation. The parasitological examination of feces showed cysts of *Giardia* spp. Vitamin B12 and folic acid were measured, which revealed hypocobalaminemia and hyperfolatemia, and a new blood count and myelogram were subsequently performed, which showed normochromic macrocytic anemia (megaloblastic), erythroid hyperplasia with an increase in precursors and prominent dysplasia (dyserythropoiesis), in addition to mild dysgranulopoiesis and dysmegakaryocytopoiesis, with a suggestive diagnosis of Myelodysplastic Syndrome with Refractory Cytopenia of Multiple Lineages. The main dysplastic changes observed in the erythroid lineage were megaloblastic erythrocytes, multilobulated, nuclear fragmentation, asynchrony in nuclear and cytoplasmic maturation, presence of occasional siderotic inclusions and abnormalities in nuclear chromatin, in addition to typical and atypical mitotic figures, which are consistent with the findings observed in the blood count. As a treatment, the administration of vitamin B12 was prescribed parenterally; however, the owner did not return for treatment.

Discussion: The changes observed in the blood count, such as macrocytosis, the presence of megaloblastic rubrics and those observed in the myelogram, are compatible with megaloblastic anemia resulting from hypocobalaminemia and corroborate the findings in humans but have not been well elucidated in animals to date. Nutritional deficiency of vitamin B12 can lead to hematological changes due to myelodysplasia similar to those observed in myelodysplastic syndromes, making it essential to differentiate between the 2 conditions. Among the causes of hypocobalaminemia, intestinal dysbiosis seems to be the most likely cause, with concomitant hyperfolatemia also observed. In conclusion, this report reinforces the importance of carrying out laboratory tests within Veterinary Medicine, as it provides highly relevant information for the early diagnosis of diseases that often do not present evident clinical signs, in addition to the hematological findings of hypocobalaminemia reported. They contribute from a scientific point of view because, to date, they have not yet been well described for the canine species, contrary to what is observed in humans.

Keywords: cabot ring, megaloblastic anemia, vitamin B12 deficiency, hyperfolatemia, siderotic inclusions, myelodysplastic syndrome.

Descritores: anel de cabot, anemia megaloblástica, deficiência de vitamina B12, hiperfolatemia, inclusões sideróticas, síndrome mielodisplásica.

DOI: 10.22456/1679-9216.137306

Received: 14 January 2024

Accepted: 27 April 2024

Published: 24 June 2024

¹Universidade de Passo Fundo (UPF), Passo Fundo, RS, Brazil. ²Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia, MG, Brazil. CORRESPONDENCE: N.C.B. Duda [nailaduda@upf.br]. Universidade de Passo Fundo (UPF). CEP 99052-900 Passo Fundo, RS, Brazil.

INTRODUÇÃO

A cianocobalamina é uma vitamina hidrossolúvel, popularmente conhecida como vitamina B12, encontrada principalmente em alimentos de origem animal (carnes vermelhas, rim, fígado e ovos) [8], sendo importante para a síntese de proteínas, neurotransmissores, síntese de ácido nucléico e como cofator para metionina sintase e metilmalonil CoA mutase, enzimas essenciais para síntese normal do DNA [2,4,15,16].

A maioria das dietas comerciais para cães e gatos são suplementadas com cobalamina, sendo a hipocobalaminemia ou deficiência de cobalamina observadas nos casos de distúrbios gastrointestinais ou defeitos hereditários e congênitos [8,12]. Dentre as alterações laboratoriais comumente observadas em humanos, cita-se a anemia macrocítica normocrômica (megaloblástica) não regenerativa, mimetização de uma síndrome mielodisplásica e em casos graves pancitopenia e falência medular [3,10,11], todavia esses achados ainda não foram bem elucidados em cães e gatos até o presente momento. Essas alterações hematológicas são reversíveis com a suplementação de cianocobalamina por via parenteral [3,11,15].

O objetivo deste trabalho é relatar as alterações hematológicas decorrentes da hipocobalaminemia em um cão, diagnosticado através da dosagem de vitamina B12 e ácido fólico.

CASO

Foi atendido em um Hospital Veterinário do Norte do Rio Grande do Sul um cão macho, sem raça definida, castrado, com 5 anos de idade, pesando

8,30 kg. O tutor relatou como queixa principal halitose e presença de cálculos dentários, além de dificuldade na mastigação e vômitos esporádicos após exercício. Apresentava protocolo vacinal e de vermifugação atualizados, residia em ambiente urbano e tinha contato com outros cães. Ao exame físico geral, o animal apresentava-se alerta, hidratado, com bom escore corporal, e com presença de doença periodontal observada na inspeção da cavidade oral, sendo recomendado realização de profilaxia dentária.

Como exames complementares foram solicitados hemograma completo e bioquímica sérica (albumina, alanina aminotransferase, colesterol total, creatinina, fosfatase alcalina, glicose, triglicerídeos e ureia). No hemograma observou-se hematócrito de 53% (ref: 37-55%), macrocitose (VCM 93,47 fL, ref: 60-77 fL) e leucopenia (4.700 leucócitos/ μ L, ref: 6.000-17.000 leucócitos/ μ L) por neutropenia (2.914 células/ μ L, ref: 3.000-11.500 células/ μ L). Na avaliação do esfregaço sanguíneo, detectou-se a presença de rubríctos megaloblastos e macrócitos apresentando fragmentação nuclear, corpúsculos de Howell-Jolly, pontilhado basofílico, inclusões sideróticas, anel de Cabot, metarrubricitose (28/100 leucócitos) e neutrófilos hipersegmentados. Na bioquímica sérica não foram observadas alterações.

Diante dos achados foram solicitados outros exames complementares, como ultrassonografia abdominal, exame parasitológico e funcional de fezes, testes de coagulação (tempo de protrombina - TP e tempo de tromboplastina parcial ativada - TTPa) e dosagem de cobalamina e ácido fólico, devido a suspeita

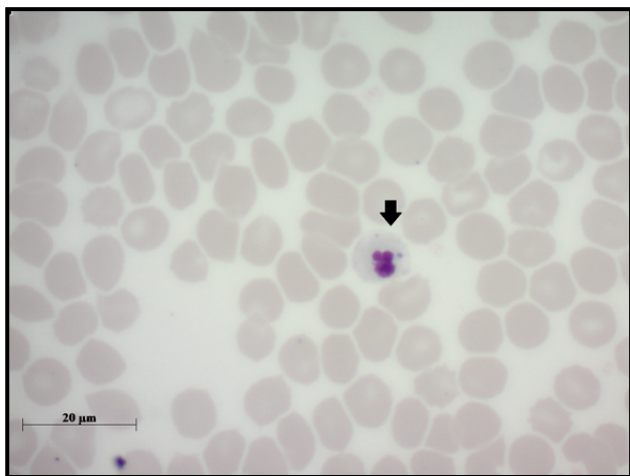


Figura 1. Metarrubrícto macrocítico em sangue periférico apresentando fragmentação nuclear e inclusões sideróticas (seta). [May-Grunwald-Giemsa; obj.100x].

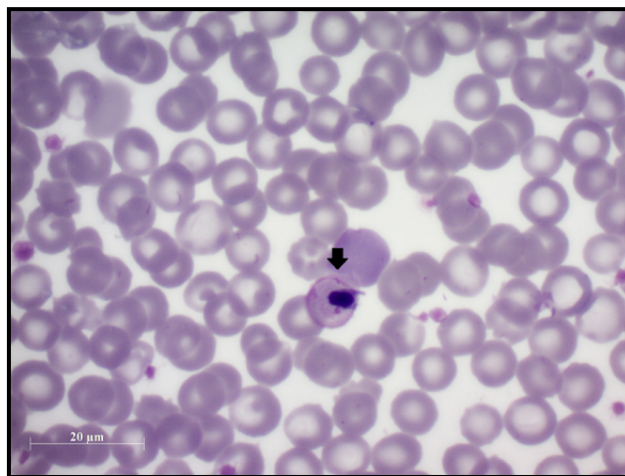


Figura 2. Sangue periférico demonstrando Anel de Cabot em metarrubrícto (seta). [Panótico; obj.100x].

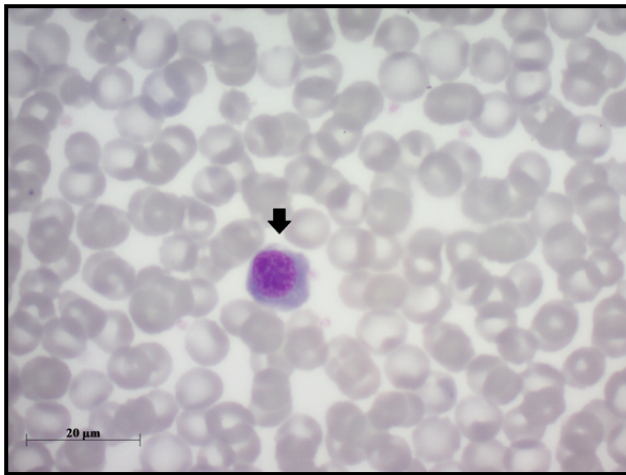


Figura 3. Sangue periférico demonstrando um rubrícito megaloblástico em sangue periférico (seta). [Panótico; obj.100x].

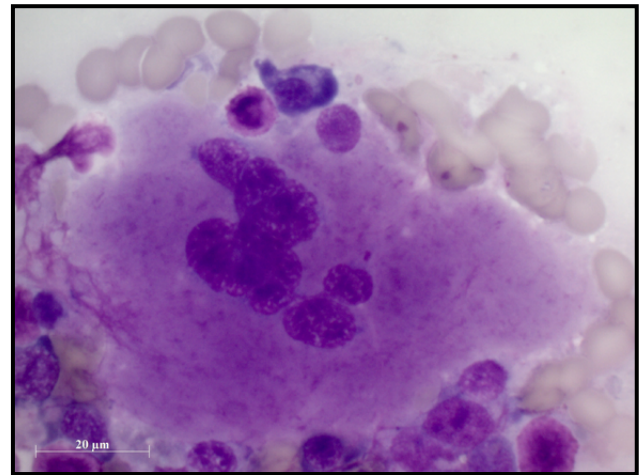


Figura 4. Megacariócito displásico em medula óssea apresentando núcleos separados. [Panótico; obj.100x].

de deficiência dessas vitaminas. Na ultrassonografia abdominal não foram observadas alterações dignas de nota. A dosagem de cobalamina apresentou valor de 156 pg/mL (ref: 252 a 908 pg/mL) e o ácido fólico valor de 12,2 ng/mL (ref: 3,5 a 8,5 ng/mL). Os valores de TP e TTPa apresentaram-se dentro da normalidade para a espécie.

O exame parasitológico de fezes foi positivo para *Giardia* spp. e o teste funcional de fezes não apresentou alterações, sendo prescrito como tratamento antiparasitário [Endogard[®] 10 - 1 comprimido, v.o. SID, durante 3 dias].

Após o tratamento foi realizada nova avaliação hematológica que evidenciou hematócrito de 49% (ref: 37-55%) e persistência dos achados anteriores, como macrocitose (VCM 95,33 fL, ref: 60-77 fL), rubríctos megaloblastos e macrócitos com fragmentação nuclear,

corpúsculos de Howell-Jolly, pontilhado basofílico, inclusões sideróticas, anel de cabot, metarrubricitose (20/100 leucócitos) e neutrófilos hipersegmentados.

Devido à persistência das alterações hematológicas foi realizado punção de medula óssea para mielograma e coleta de sangue periférico previamente para hemograma. No mielograma observou-se displasia discreta na série megacariocítica, apresentando eventuais núcleos múltiplos e separados, porém com escalonamento maturativo conservado, presença de hipoplasia mieloide relativa e discreta displasia, com alterações tóxicas discretas e redução do número de mielócitos, metamielócitos e neutrófilos bastonetes, além de hiperplasia eritroide com aumento do número de precursores (8,40%) associado à proeminente displasia eritroide com presença de eritrócitos megaloblásticos, multilobulação, fragmentação nuclear,

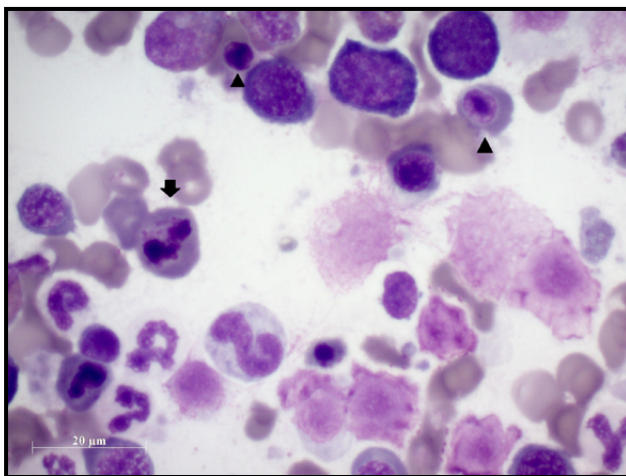


Figura 5. Medula óssea apresentando metarrubríctos e rubríctos com assincronia na maturação núcleo-citoplasma (ponta da seta) e figura de mitose atípica (seta). [Panótico; obj.100x].

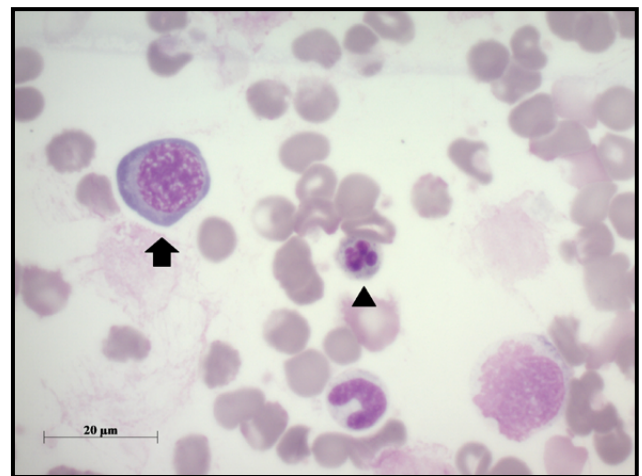


Figura 6. Medula óssea apresentando rubrícito megaloblástico (seta) e metarrubrícito macrocítico com fragmentação nuclear e inclusões sideróticas (ponta da seta). [Panótico; obj.100x].

assincronia na maturação nuclear e citoplasmática, presença de eventuais inclusões sideróticas e anormalidades na cromatina nuclear, além de figuras de mitose típicas e atípicas, caracterizando diseritropoiese. A avaliação foi sugestiva de Síndrome Mielodisplásica com Citopenia Refratária de Múltiplas Linhagens, devido principalmente à marcada diseritropoiese e aumento dos precursores eritroides, além de discreta disgranulopoiese e dismegacariocitopoiese. O hemograma evidenciou hematócrito de 33% (ref: 37-55%) e macrocitose (VCM 93,47 fL, ref: 60-77 fL), além de leucopenia (4.500 leucócitos/ μ L, ref: 6.000-17.000 leucócitos/ μ L) por neutropenia (2.914 células/ μ L, ref: 3.000-11.500 células/ μ L) e persistências das alterações morfológicas descritas nos hemogramas anteriores. Como tratamento, foi recomendado suplementação de vitamina B12 pela via parenteral e retorno para acompanhamento clínico e laboratorial, todavia o tutor não retornou para atendimento.

DISCUSSÃO

A cobalamina é formada por um composto metálico que em eucariontes está localizado principalmente nas mitocôndrias tendo papel fundamental na síntese de DNA. A principal fonte da cobalamina é através da dieta, sendo rica em produtos de origem animal. Alterações no metabolismo desta vitamina estão relacionadas a deficiência congênita de fator intrínseco ou anormalidades do trato gastrointestinal, refletindo em manifestações hematológicas, neurológicas ou metabólicas que podem variar de leve a grave ou até mesmo fatal [1,5,18].

A hipocobalaminemia se refere a dosagem sérica de cobalamina entre o limite inferior de detecção do ensaio e o limite inferior de referência para a espécie, já a deficiência de cobalamina é referida quando a dosagem sérica de cobalamina apresenta valores indetectáveis nos ensaios [8], todavia a concentração sérica de cobalamina não reflete necessariamente o status de cobalamina em todo o corpo do indivíduo visto que as reações metabólicas dependentes de cobalamina estão localizadas no compartimento intracelular (citoplasma e mitocôndrias), podendo ocorrer a deficiência intracelular de cobalamina até mesmo com valores séricos normais, portanto em humanos se recomenda incluir a dosagem de outros metabólitos como a homocisteína, o ácido metilmelânico (MMA) e a holotranscobalamina (fração biologicamente ativa da cobalamina) [5]. Além da dosagem complementar

desses metabólitos, recomenda-se também dosar o folato associado a cobalamina em casos de suspeita de hipocobalaminemia, pois comumente a deficiência de cobalamina está associada a deficiência de folato já que participam do mesmo metabolismo celular [5,6,8,15]. No presente relato foram realizadas as dosagens séricas de cobalamina e ácido fólico, que evidenciaram hipocobalaminemia e hiperfolatemia. Não foram dosados os demais metabólitos citados anteriormente devido a indisponibilidade destes exames para a espécie canina.

Dentre as anormalidades citadas na literatura do metabolismo da cobalamina em humanos incluem a anemia não regenerativa macrocítica (megaloblástica) [3,11,13], além de pancitopenia mimetizando uma síndrome mielodisplásica [9], sendo incomum tais alterações na espécie canina [13]. Em cães da raça Schnauzer Gigante com má absorção seletiva herdada de cobalamina há relatos de alterações hematológicas como neutropenia leve, anemia normocítica normocrômica com aumento do RDW devido a presença de eventuais megaloblastos, além de eventual presença de neutrófilos hipersegmentados e gigantes, e na medula óssea displasia na linhagem eritroide, com assincronia núcleo citoplasmática e anormalidades na cromatina nuclear [4,15,16].

No presente relato o paciente apresentou alterações no hemograma e na medula óssea compatíveis com anemia megaloblástica, baseado nas descrições relatadas em humanos. De acordo com a literatura, as inclusões sideróticas em células eritroides foram reconhecidas em alguns cães e gatos com mielodisplasia e diseritropoiese sem etiologia definida até o presente momento. O Anel de Cabot comumente está associado ao pontilhado basofílico e tem sido relatado em humanos com deficiência de vitamina B12 e folato, mielodisplasia e diseritropoiese [7], como observado no presente caso.

A síndrome mielodisplásica com citopenia refratária de múltiplas linhagens é definida por características displásicas proeminentes em 2 ou mais linhagens celulares hematopoiéticas, mas sem aumento de mioblastos na medula óssea. Nesta classificação incluem cães com anemia sideroblástica e não sideroblástica. Cães que apresentam síndrome mielodisplásica com citopenia refratária de múltiplas linhagens associada a anemia sideroblástica, normalmente apresentam anemia arregenerativa microcítica ou hipocrômica com muitos sideróticos em esfregaço sanguíneo, e nos casos

de anemia não sideroblástica normalmente se observa anemia arregenerativa normocítica normocrômica com displasia em todas as linhagens de células hematopoiéticas [16]. Tais achados diferem do observado no presente relato, visto que este apresentou uma anemia macrocítica normocrômica, porém com presença de inclusões sideróticas. Todavia o diagnóstico de síndrome mielodisplásica deve ser descartado em distúrbios adquiridos como no caso de deficiência nutricional de vitamina B12 e ácido fólico que levam a alterações semelhantes a uma síndrome mielodisplásica [14,15]. Sendo assim, é importante realizar acompanhamento hematológico e de medula óssea para diferenciação entre mielodisplasia e síndrome mielodisplásica [16], o que não foi realizado no presente caso pois o tutor não retornou mais com o paciente.

A pancitopenia grave é relatada na literatura humana como consequência da severa deficiência de cobalamina [11], sendo um achado ainda não descrito em cães e raro em gatos [17], o que também não foi observado neste caso. Contudo deve-se considerar que o diagnóstico precoce leva a um melhor prognóstico da doença.

Por fim, dentre as causas de hipocobalaminemia, a disbiose intestinal parece ser a mais provável no caso em questão, pois ocorre aumento da presença de bactérias *Bacteroides* spp. que leva ao maior consumo de complexos cobalamina- IF por esses microrganismos e em contrapartida maior produção de folato,

sendo observado a hipocobalaminemia associado a hiperfolatemia [8].

Dentre os sinais clínicos associados à patologia são descritos a anorexia, letargia, vômito e diarreia, podendo apresentar variação clínica conforme a idade e cronicidade da doença. São descritos também, apesar de raros, alterações neurológicas em decorrência das acidemias orgânicas causadas pela hipocobalaminemia [8,14]. Dentre os sinais clínicos citados, o paciente apresentava apenas vômitos esporádicos, todavia os demais sinais clínicos poderiam ser achados pertinentes em caso de persistência da hipocobalaminemia ou diagnóstico mais tardio.

Em conclusão, este relato reforça a importância da realização de exames laboratoriais dentro da Medicina Veterinária, pois traz informações de extrema relevância para o diagnóstico precoce de doenças que, em muitos casos, não apresentam sinais clínicos evidentes. Os achados hematológicos da hipocobalaminemia relatados contribuem do ponto de vista científico, pois até o presente momento ainda não foram bem descritos para a espécie canina, ao contrário do que se observa na espécie humana.

MANUFACTURER

¹Virbac Ind. e Com. de Produtos Veterinários Ltda. São Paulo, SP, Brazil.

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

REFERENCES

- 1 **Arvanitakis C. 1978.** Functional and morphological abnormalities of the small intestinal mucosa in pernicious anemia a prospective study. *Acta Hepatogastroenterologica*. 25: 313-318.
- 2 **Davenport D.J., Ching R.J., Hunt J.H., Bruyette D.S. & Gross K.L. 1994.** The effect of dietary levels of folate and cobalamin on the serum concentration of folate and cobalamin in the dog. 124: 2559-2562. DOI: 10.1093/jn/124.suppl_12.2559S
- 3 **Esposito G., Dottori L., Pivetta G., Ligato I., Dilaghi E. & Lahner E. 2022.** Pernicious Anemia: The Hematological Presentation of a Multifaceted Disorder Caused by Cobalamin Deficiency. *Nutrients*. 14: 1-20. DOI: 10.3390/nu14081672
- 4 **Fyfe J.C., Ginger U., Hall C.A., Jezyk P.F., Klumpp S.A., Levine J.S. & Patterson D.F. 1991.** Inherited Selective Intestinal Cobalamin Malabsorption and Cobalamin Deficiency in Dogs. *Pediatric Research*. 29: 24-31.
- 5 **Green R. & Miller L.W. 2007.** Vitamin B12. In: Zemleni J., Rucker R.B., McCormick D.B. & Suttie J.W. (Eds). *Handbook of Vitamins*. 4th edn. London: CRC Press, pp.413-458.
- 6 **Grützner N., Heilmann R.M., Stupka K.C., Rangachari V.R., Weber K., Holzenburg A., Suchodolski J.S. & Steiner J.M. 2013.** *Veterinary Journal*. 197: 420-426. DOI: 10.1016/j.tvjl.2013.02.002
- 7 **Harvey J.W. 2012.** Disorders of bone marrow. In: Harvey J.W. (Ed). *Veterinary Hematology: A Diagnostic Guide and Colors Atlas*. Saint Louis: Saunders, pp.260-327.

- 8 Kather S., Grützner N., Kook P.H. & Dengler F. 2020. Review of cobalamin status and disorders of cobalamin metabolism in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 34: 13-28. DOI: 10.1111/jvim.15638
- 9 Kim M., Lee S., Park J., Lim J., Cho B., Kim Y.J., Kim H., Lee S., Min C., Kim Y. & Cho S. 2011. Vitamin B12 - Responsive Pancytopenia Mimicking Myelodysplastic Syndrome. *Acta Haematologica*. 125: 198-201.
- 10 Monteiro M.D., Ferreira N.F., Marin F.R. & Assis I.B. 2019. Anemia megaloblástica: revisão de literatura. *Revista Saúde em Foco*. 11: 934-963
- 11 Oliveira J.P., Emilhano A.S., Papi J.S.C., Souza M.P.S., Ferreira C.B.D.C., Pereira G.G., Mariano G.D., Oliveira I.P.M., Barboza M.L.R. & Faria A.C. B. 2022. Pancitopenia grave secundária a deficiência de vitamina B12: relato de caso. *Transfusional and Cell Therapy Hematology*. 44: 626-627. DOI: 10.1016/j.htct.2022.09.1076.
- 12 Ruaux C.G., Steiner J.M. & Willians D.A. 2001. Metabolism of amino acids in cats with severe cobalamin deficiency. *American Journal of Veterinary Research*. 62: 1852-1858. DOI: 10.2460/ajvr.2001.62.1852.
- 13 Stanley E., Appleman E., Schlag A. & Siegel A. 2019. *Veterinary Internal Medicine*. 33: 106 - 113.
- 14 Weiss D.J. 2010. Congenital Dyserythropiesis. In: Brooks M.B., Harr K E. Seelig D.M., Wardrop K.J. & Weiss J.D. (Eds). *Schalm's Veterinary Hematology*. Ames: Wiley, pp.196-197.
- 15 Weiss D. & Smith S. 2000. Primary Myelodysplastic Syndromes of Dogs: A Report of 12 Cases. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 14: 491-494.
- 16 Weiss D.J. 2010. Myelodysplastic Syndromes. In: Weiss J.D. & Wardrop K.J. (Eds). *Schalm's Veterinary Hematology*. Ames: Wiley, pp.467-474.
- 17 Worhunsky P., Toulza O., Rishniw M., Berghoff N., Ruaux C.G., Steiner J.M. & Simpson K.W. 2013. The Relationship of Serum Cobalamin to Methylmalonic Acid Concentrations and Clinical Variables in Cats. *Veterinary Internal Medicine*. 27(5): 1056-1063.
- 18 Zafalon R.A., Risolia L.W., Vendramin T.H.A., Rodrigues R.B.A., Pedrinelli V., Teixeira F.A., Rentas M.F., Perini M.P., Alvarenga I.C. & Brunetto M.A. 2020. Nutritional Inadequacies in Commercial Vegan Foods for Dogs and Cats. *Plos One*. 15: 1-17.