

## Caso clínico de

## MEDICINA INTERNA

P. Nicolás,<sup>1</sup> R. Barrera,<sup>1</sup> F.J. Duque,<sup>1</sup> M.A. González,<sup>1</sup> J.M. Usón,<sup>1</sup> E.M. Pérez,<sup>1</sup> J.I. Cristóbal<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hospital Clínico Veterinario, Universidad de Extremadura, Avd. de la Universidad s/n. 10004 Cáceres.

## Historia clínica

Se presentó un perro Border Collie, macho, no castrado, de 1 año de edad, correctamente vacunado y desparasitado, remitido por su clínica veterinaria habitual. En la anamnesis los propietarios comentaron que presentaba diarrea desde el nacimiento siendo, además, el más pequeño de la camada. A pesar de los tratamientos antiparasitarios (pirantel, febantel y prazicuantel; Drontal plus®, BAYER HISPANIA, S.L., Alemania), el ensayo dietético y el tratamiento con metronidazol durante una semana, llevado a cabo por su veterinario habitual, el animal no mejoraba.

El perro, de 14,2 kg y una condición corporal de 2/5, no presentó anomalías en la exploración física.

Se realizó un análisis de sangre que incluyó hemograma completo con recuento diferencial de leucocitos (Mindray BC-5300 Vet, Shenzhen) y bioquímica sanguínea (Saturno 100 Crony Instruments, Roma) (Tablas 1 y 2).

En el hemograma se observó anemia macrocítica hipocrómica no regenerativa y leucopenia neutropénica. La bioquímica mostraba disminución de colesterol y aumento de fosfatasa alcalina. El resto de los parámetros evaluados se encontraban dentro del rango de normalidad. Además, la determinación de cortisol basal y el test de estimulación de ácidos biliares séricos pre y postprandiales, realizado en su clínica, fue normal.

La radiografía de abdomen no presentó alteraciones evidentes. En la ecografía abdominal se observó aumento de grosor de la mucosa gástrica e intestinal y presencia de líquido en algunos tramos de intestino delgado. En el intestino grueso se evidenció la presencia de heces de consistencia disminuida. Los ganglios linfáticos mesentéricos se encontraban levemente aumentados de tamaño. El resto de la ecografía no presentaba hallazgos significativos.

En el análisis coprológico, realizando flotación y sedimentación, no se observó la presencia de formas parasitarias. Se realizó, además, un FASTest para la detección cualitativa de antígenos de *Giardia duodenalis*

Tabla 1. Hemograma

Parámetro	Resultado	Intervalo de referencia
Hematíes	<b>5,21</b>	5,9-7,6 × 10 <sup>6</sup> / μl
Hemoglobina	<b>12,2</b>	14,5-19,20 g/dl
Hematocrito	<b>39,8</b>	41,10-55,00 %
VCM	<b>76,4</b>	62,00-71,00 fl
CHCM	<b>30,60</b>	33,00-36,50 g/dl
Recuento de reticulocitos	<b>50,6</b>	10,0-110,0 K/μL
Leucocitos	<b>6,55</b>	6,80-14,00 × 10 <sup>3</sup> / μl
Neutrófilos	<b>3</b>	4,12-10,35 × 10 <sup>3</sup> / μl
Eosinófilos	0,45	0,09-1,75 × 10 <sup>3</sup> / μl
Basófilos	0	0,00-0,09 × 10 <sup>3</sup> / μl
Linfocitos	2,49	1,11-3,30 × 10 <sup>3</sup> / μl
Monocitos	0,18	0,00-0,21 × 10 <sup>3</sup> / μl
Plaquetas	198	166,00-575,00 × 10 <sup>3</sup> / μl

VCM: volumen corpuscular medio; CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular media. Los valores en negrita se encuentran fuera del intervalo de referencia.

en heces (Eurovet Veterinaria S.L., Madrid, España), obteniendo un resultado negativo.

Dado que, previamente en su clínica, se habían llevado a cabo ensayos terapéuticos y dietéticos, se realizó una endoscopia digestiva en la que se visualizó la mucosa esofágica y gástrica normal. Las mucosas duodenal e ileal presentaban aumento de la granularidad, pero sin aumento de la friabilidad, ni presencia de linfangiectasia o erosiones (Figs. 1 y 2). El resto de la endoscopia fue normal.

Durante la realización de la endoscopia digestiva se tomaron muestras de la mucosa gástrica, duodeno, íleon y mucosa colónica. Dichas muestras se remitieron para su estudio histopatológico (Histovet, Barcelona,

\* Contacto: palomanicolos.1994@hotmail.com

Tabla 2. Bioquímica

Parámetro	Resultado	Intervalo de referencia
Glucosa	110	80-150 mg/dl
Ratio ALB/GLOB	1,59	0,8-2
Proteínas totales	5,7	5,5-7,3 g/dl
Albumina	3,5	2,5-3,9 g/dl
Globulinas	2,2	1,5-3,5 g/dl
Creatinina	1,2	0,7-1,2 mg/dl
Urea	22	21,40-51,3 mg/dl
Calcio	10	9,1-11,9 mg/dl
Fósforo	3,4	3,3-5,7 mg/dl
Colesterol	<b>52</b>	111-250 mg/dl
Sodio	147	140-161 mEq/l
Potasio	3,8	3,80-5 mEq/l
Cloro	119	113-123 mEq/l
FA	<b>219</b>	18-100 U/l
ALT	29	16-49 U/l
Lipasa pancreática específica canina	135	10,00-160,00 µg/l
Cortisol basal	33,6	5-65 ng/ml

ALT: alanina aminotransferasa; FA: fosfatasa alcalina; GLOB: globulinas; ALB: albúmina. Los valores en negrita se encuentran fuera del intervalo de referencia.

España). Los resultados histopatológicos de las muestras mostraron leve hipertrofia de la mucosa gástrica, junto con expansión del intersticio de la lámina propia a través de una moderada fibrosis y leves agregados inflamatorios de carácter mononuclear. En el tejido colónico, se observaron áreas discretas de erosión superficial del epitelio con leves a moderados infiltrados inflamatorios en la lámina propia, sin desarrollar epiteliotropismo y sin aparecer vinculados a la presencia de formas infecciosas, cambios que aparecen asociados a una leve dilatación de las criptas y discreta hiperplasia glandular. En el tejido intestinal, se halló una moderada atrofia de las vellosidades, con leve hiperplasia glandular, distensión de las criptas y moderados a puntualmente intensos infiltrados mononucleares en la lámina propia que progresan asociados a marcada hiperplasia del tejido linfóide. Las primeras son formas que evolucionan desarrollando epiteliotropismo sin aparecer vinculadas a elementos infecciosos. En conjunto, se mostraba un cuadro de inflamación lin-



Figura 1. Imagen endoscópica del duodeno con granularidad ligeramente aumentada.



Figura 2. Imagen endoscópica del íleon con granularidad ligeramente aumentada.

foplasmodiaria que afectaba de forma leve a la mucosa gástrica y colónica y en una intensidad moderada y puntualmente intensa al intestino delgado.

Se enviaron, además, muestras de suero (Laboklin, Madrid, España) para las mediciones de ácido fólico, ensayo de inmunoreactividad de un análogo de tripsina (TLI) y cobalamina sérica (Tabla 3).

Tabla 3. Otros parámetros

Parámetro	Resultado	Intervalo de referencia
TLI	26	>5 µg/l
Ácido fólico	<b>11,22</b>	3-10 ng/ml
Cobalamina	<b>50</b>	300-800 pg/ml

TLI: ensayo de inmunoreactividad de un análogo de tripsina. Los valores en negrita se encuentran fuera del intervalo de referencia.

En base a las pruebas realizadas, ¿cuáles son los diagnósticos diferenciales que se han descartado?

¿Qué nos sugiere la disminución de cobalamina sérica?

¿Qué otra(s) técnica(s) realizaría para alcanzar el diagnóstico definitivo?

¿Cuáles son las opciones de tratamiento disponibles?

En base a las pruebas realizadas, ¿cuáles son los diagnósticos diferenciales que se han descartado?

Entre los diagnósticos diferenciales de diarrea y pérdida de peso crónicas en perros jóvenes, se encuentran las infecciones provocadas por parásitos, descartadas mediante el análisis coprológico, las obstrucciones intestinales o el *shunt* portosistémico. Si bien la ecografía no descarta la existencia de estas patologías, no se observaron tras la realización de esta prueba de diagnóstico por imagen y el resultado del test de estimulación de ácidos biliares séricos fue normal.

Con el resultado de la analítica sanguínea completa, se descartaron enfermedades extragastrointestinales que pudieran estar causando dicho cuadro digestivo, entre otras, hepatitis, enfermedad renal y pancreatitis. Además, descartamos hipoadrenocorticismo con un valor de cortisol basal normal (33,6 [5-65 ng/ml]).

La endoscopia y los resultados de la histopatología confirmaron la presencia de un estado inflamatorio a nivel gastrointestinal. En base a estos hallazgos, se incluyó en el diagnóstico diferencial la enfermedad inflamatoria intestinal crónica, descartando por otra parte el linfoma intestinal.

Por último, las muestras enviadas al laboratorio externo descartaron una deficiencia de ácido fólico, ya que este estaba levemente por encima del rango de referencia en nuestro paciente, así como una insuficiencia pancreática exocrina, ya que el resultado de la TLI fue normal. Sin embargo se observó una deficiencia de cobalamina sérica (50 pg/ml [300-800 pg/ml]).

¿Qué nos sugiere la disminución de cobalamina sérica?

El diagnóstico diferencial de hipocobalaminemia incluye insuficiencia pancreática exocrina, enteropatías inflamatorias crónicas, enteropatía perdedora de proteínas, linfoma intestinal y disbiosis del intestino delgado.<sup>1</sup>

Los derivados metabólicos de cobalamina (Cbl), o vitamina B<sub>12</sub>, actúan como cofactores esenciales de la metilmalonil-CoA mutasa, que convierte la metilmalonil-CoA en succinil-CoA, y la metionina sintasa, que se requiere para la remetilación de la homocisteína. Una

disminución en la actividad de estas enzimas intracelulares da como resultado aumentos en el ácido metilmalonil-CoA (AMM) y las concentraciones de homocisteína.<sup>2</sup>

La concentración sérica de cobalamina no necesariamente refleja exactamente el estado de cobalamina de todo el cuerpo. Por lo tanto, otros marcadores que reflejan más estrechamente la disponibilidad intracelular de cobalamina, como la concentración sérica de AMM, deberían incluirse idealmente al evaluar el estado de cobalamina.<sup>1</sup>

Las concentraciones de AMM se pueden determinar en muestras de suero y orina. Si bien se miden de forma rutinaria en medicina humana, la medición de las concentraciones séricas de AMM no se realiza actualmente de manera rutinaria en animales de compañía.<sup>1</sup>

La hipocobalaminemia se presenta en perros con una concentración de cobalamina sérica entre el límite inferior de cuantificación del ensayo y el límite inferior de referencia. El treinta y uno por ciento de los perros hipocobalaminémicos tienen concentraciones séricas de AMM por encima del intervalo de referencia. Estos perros tienen deficiencia de cobalamina a nivel celular.<sup>1</sup>

Por otro lado, el déficit de cobalamina lo presentan perros con una concentración de cobalamina sérica indetectable y una concentración de AMM sérico por encima del intervalo de referencia.<sup>1</sup>

Los perros dependen de la absorción intestinal de cobalamina en la dieta unida al factor intrínseco (FI). El complejo Cbl-FI se une al complejo receptor funcional compuesto por subunidades sin amnios (AMN) y cubilina (CUBN) (CUBAM), un receptor endocítico heteromérico, multiligando, que consta de 2 proteínas, AMN y CUBN.<sup>3</sup>

En animales con absorción reducida de cobalamina, independientemente de la causa, se produce el agotamiento de las reservas corporales de cobalamina, produciéndose como consecuencia una deficiencia de cobalamina sérica. Como todas las células del cuerpo requieren cobalamina para el metabolismo del carbono único, se ha planteado la hipótesis de que la deficiencia de cobalamina puede contribuir a los signos clínicos y las manifestaciones de enfermedad gastrointestinal en algunos pacientes.<sup>4</sup>

En medicina humana, las mutaciones en el gen

AMN o CUBN conducen a una malabsorción selectiva de cobalamina conocida como “Síndrome de Imerslund-Gräsbeck” (SIG).<sup>5</sup>

En perros, la malabsorción selectiva de cobalamina intestinal, comparable al SIG en humanos, se ha descrito, entre otros, en Border Collies.<sup>6</sup>

### ¿Qué otra(s) técnica(s) realizarías para alcanzar el diagnóstico definitivo?

Se envió una muestra de sangre (Vetgenomics, Barcelona, España) para la realización de un test genético basado en la detección de la mutación c.8392delC del gen CUBN asociada a la incapacidad para absorber la cobalamina (vitamina B<sub>12</sub>) en el intestino.

El resultado del test para nuestro paciente fue positivo a la mutación, es decir, desarrollará la enfermedad a lo largo de su vida y transmitirá la mutación al 100 % de su descendencia.

Los signos clínicos de deficiencia de cobalamina en Beagles con malabsorción de cobalamina hereditaria se manifiestan en el período juvenil a medida que disminuyen las reservas fetales de la vitamina. Esto es algo distinto al SIG en Border Collies causado por una mutación diferente, en la que el inicio de los signos a menudo se retrasa hasta la edad adulta temprana y los signos clínicos, en algunos casos, son más leves. El SIG en Border Collies es causado por una mutación en el gen CUBN y es la causa principal de la malabsorción intestinal de cobalamina en esta raza.<sup>7</sup>

Estos perros nacen con una reserva de cobalamina hepática que, sin embargo, si no se puede reemplazar mediante la dieta, se agota durante el crecimiento postnatal. Por lo tanto, los signos clínicos de malabsorción de cobalamina aparecen desde las 6 a las 12 semanas de edad e incluyen falta de crecimiento y pérdida crónica del apetito. La función renal en perros afectados es normal, pero las proteínas de bajo peso molecular se eliminan en la orina.<sup>6</sup>

La proteinuria en pacientes con malabsorción selectiva de cobalamina persistirá durante toda la vida debido a la función anormal del CUBAM tubular renal, que no se corrige con la administración de suplementos de cobalamina. En personas con SIG, la proteinuria tubular no afecta negativamente a la función renal, y el seguimiento a largo plazo de los pacientes humanos afectados sugiere que el pronóstico renal es excelente.<sup>1</sup>

### ¿Cuáles son las opciones de tratamiento disponible?

Hasta la fecha, el tratamiento en perros ha consistido en suplementos parenterales para eludir la causa subyacente del problema (es decir, la absorción intestinal deficiente de cobalamina). Sin embargo, en me-

dicina humana se indica que la suplementación por vía oral también conduce a la normalización de los marcadores intracelulares de deficiencia de cobalamina; además, se demostró que aproximadamente el 1% de la cobalamina libre se absorbe a lo largo de todo el intestino por difusión pasiva sin la necesidad de un receptor CUBAM intacto (aunque este hecho aún es controvertido en veterinaria).<sup>6</sup>

Aunque esta ruta de absorción no se ha demostrado en perros, recientemente se determinó que la suplementación por vía oral aumenta de forma eficaz las concentraciones de cobalamina sérica en perros.<sup>8</sup>

En nuestro paciente, el protocolo de tratamiento instaurado fue una inyección subcutánea (600 µg/paciente) de cianocobalamina (Optovite B<sub>12</sub> 1.000 microgramos solución inyectable®, Normon S.A, Madrid) de forma semanal durante 6 semanas.<sup>8</sup> Tras las 6 primeras semanas se repitió la dosis un mes más tarde (Fig. 3). El paciente continuó con la suplementación de por vida y el seguimiento fue realizado por parte de su veterinario habitual, por lo que no tenemos información de los resultados laboratoriales sobre el seguimiento.



**Figura 3.** Imagen de nuestro paciente 9 semanas después del inicio del tratamiento.

## Discusión

El síndrome de Imerslund-Gräsbeck, definido por la malabsorción selectiva de cobalamina intestinal, es un trastorno autosómico recesivo<sup>4</sup> que habría que tener en cuenta en el diagnóstico diferencial de perros jóvenes de raza Border Collie, entre otras, que presenten falta de crecimiento y antecedentes crónicos de enfermedad gastrointestinal. En nuestro caso, el perro acudió a consulta por retraso en el crecimiento y diarreas crónicas.

Para establecer un diagnóstico definitivo es necesario descartar otras enfermedades que pudieran ser la causa de dicha sintomatología. Para ello se llevó a cabo la realización de analíticas sanguíneas, examen coprológico y diversas pruebas de imagen. La endoscopia digestiva y el análisis histopatológico mostraron que el resulta-

do podía estar causado por cualquiera de los trastornos que dan lugar a inflamación mononuclear crónica del tracto digestivo en la especie canina, incluyendo una enfermedad inflamatoria intestinal o alguna forma de enteropatía asociada a malabsorción. Este proceso podía estar relacionado con enfermedades de origen extragastrointestinal, por lo que se procedió a la realización de otras pruebas complementarias, además de las mediciones de ácido fólico, TLI y cobalamina sérica, estando esta última disminuida en nuestro paciente.

Las anomalías hematológicas en pacientes humanos con SIG incluyen una dishematopoyesis que, generalmente, se caracteriza por una anemia no regenerativa de gravedad y neutropenia variables. La megaloblastosis rara vez se ve en perros y algunos perros con SIG presentan un hemograma normal.<sup>1</sup>

Si bien la concentración sérica de cobalamina se usa de forma diagnóstica, las reacciones catalizadas por enzimas dependientes de la cobalamina se producen en las mitocondrias, lo que dificulta la evaluación de la cobalamina tisular disponible en el paciente. La deficiencia de cobalamina a nivel tisular se asocia con un aumento en las concentraciones urinarias y séricas de

un ácido orgánico llamado ácido metilmalónico, producto alternativo de una vía dependiente de la cobalamina dentro de las mitocondrias. Usando este compuesto como marcador de deficiencia de cobalamina, se ha podido demostrar que los perros con una concentración baja de cobalamina sérica sí tienen una deficiencia significativa de cobalamina a nivel tisular.<sup>9</sup> En nuestro caso, la medición de ácido metilmalónico no fue llevada a cabo y llegamos al diagnóstico definitivo mediante pruebas genéticas.

En cuanto al tratamiento, como hemos comentado anteriormente, consistió en la suplementación de cobalamina de forma parenteral. Comenzó con una inyección subcutánea de cianocobalamina (Optovite B<sub>12</sub> 1.000 microgramos solución inyectable®, Normon S.A, Madrid) a una dosis de 600 µg/paciente de forma semanal durante 6 semanas. Tras el transcurso de las 6 primeras semanas, se repitió la dosis un mes más tarde.

Cuatro meses más tarde el perro pesaba 20 kg y actualmente continúa en remisión. El paciente continuó con la suplementación de por vida y el seguimiento fue realizado por parte de su veterinario habitual, por lo que no tenemos información sobre el seguimiento.

**Fuente de financiación:** este trabajo no se ha realizado con fondos comerciales, públicos o del sector privado.

**Conflicto de intereses:** los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

## Bibliografía

1. Kather S, Grütznert N, Kook P, Dengler F, Heilmann R: Review of cobalamin status and disorders of cobalamin metabolism in dogs. *J Vet Intern Med* 2020; 34(1): 13-28.
2. Carmel R: Current concepts in cobalamin deficiency. *Annu Rev Med* 2000; 51:357-375.
3. Fyfe JC, Madsen M, Højrup P, et al.: The functional cobalamin (vitamin B12)-intrinsic factor receptor is a novel complex of cubilin and amnionless. *Blood* 2004; 103:1573-1579.
4. Simpson KW, Fyfe J, Cornetta A, et al.: Subnormal concentrations of serum cobalamin (Vitamin B12) in cats with gastrointestinal disease. *J Vet Intern Med* 2001; 15: 26-32.
5. Gräsbeck R: Imerslund-Gräsbeck syndrome (selective vitamin B(12) malabsorption with proteinuria). *Orphanet J Rare Dis* 2006; 1:17-23.
6. Kook PH, Hersberger M: Daily oral cyanocobalamin supplementation in Beagles with hereditary cobalamin malabsorption (Imerslund-Gräsbeck syndrome) maintains normal clinical and cellular cobalamin status. *J Vet Intern Med* 2018; 33:751-757.
7. Owczarek-Lipska M, Jagannathan V, Drögemüller C, et al.: A Frameshift Mutation in the Cubilin Gene (CUBN) in Border Collies with Imerslund-Gräsbeck Syndrome (Selective Cobalamin Malabsorption). *PLoS One* 2013; 8:e61144.
8. Toresson L, Steiner JM, Razdan P et al.: Comparison of efficacy of oral and parenteral cobalamin supplementation in normalising low cobalamin concentrations in dogs: a randomised controlled study. *Vet J* 2018; 232:27-32.
9. Vaden SL, Wood PL, Ledley FD, et al.: Cobalamin deficiency associated with methylmalonic acidemia in a cat. *J Am Vet Med Assoc* 1992; 200:1101-1103.