

FALLRAPPORT:

Ärftlig brist av vitamin B12 (Imerslund-Gräsbecks syndrom) hos en border collie

Diffusa symtom som trötthet, dålig tillväxt samt hematologiska störningar som anemi, neutropeni och metarubricytos kan föranleda misstanke om IGS. Numera finns ett genetiskt test kommersiellt tillgängligt bland annat vid Husdjursgenetiska laboratoriet, SLU.

Text: Ulrika Falkenö, DipECVCP och Harold Tvedten, DipACVP, DipECVCP, PhD, Klinisk kemiska laboratoriet, Universitetsdjursjukhuset, Sveriges Lantbruksuniversitet, 750 07, Uppsala

Ett blodprov från en 1,5 år gammal border collietik skickades till Klinisk kemiska laboratoriet, UDS, för hematologisk undersökning. Hunden hade besökt veterinär på grund av trötthet sedan ett träningsläger som hölls två veckor tidigare. Enligt ägaren hade tiken ingen tidigare sjukdomshistoria, hon hade aldrig varit utanför norra Sverige och stod inte på någon medicinering. Vid klinisk undersökning var tiken slö på gränsen till apatisk, hade bleka slemhinnor, under medelgott hull och dålig pälskvalitet.

Den hematologiska undersökningen visade måttlig anemi med måttlig regeneration och måttlig neutropeni samt trombocytantal inom referensintervallet (Tabell 1). Vid mikroskopering av blodutstryk från tiken (Bild 1) sågs måttlig polykromasi och anisocytos, lindrig basofil punktering, sparsam förekomst av Howell Jollykroppar och ett kraftigt ökat antal kärnförande erythrocyter (metarubricytos). I plasman sågs lindrig hemolys. Vid blandning av EDTA-blod med koksalt sågs inga tecken på spontanagglutination.

Ett spontankastat urinprov från tiken undersöktes med urinsticka, vilken gav utslag för protein (2+) och blod (2+) och vid bakterieodling sågs växt av streptokocker och stafylokokker.

Hos border collie förekommer en mutation i cubilin-genen som kan orsaka trötthet, dålig tillväxt, anemi, neutropeni och metarubricytos och därför analyserades koncentrationerna av vitamin B12 och folsyra i serum. Koncentrationen av vitamin B12 var omätbart låg medan folsyrakoncentrationen låg inom referensintervallet. Ett genetiskt test visade sedan att tiken var homozygot för den mutation i cubilin-genen som orsakar Imerslund-Gräsbecks syndrom (IGS) eller kongenital, selektiv, malabsorption av vitamin B12 hos border collie.

Tiken fick två subkutana injektioner av vitamin B12 med

14 dagars mellanrum och två veckor efter andra injektionen skickades uppföljande blodprover till Klinisk kemiska laboratoriet, UDS. Både den hematologiska undersökningen och resultatet av B12-analysen var utan anmärkning. Tiken var inte längre trött, hon hade börjat gå upp i vikt och hennes päls hade blivit glansigare.

Diskussion

Vitamin B12 (kobalamin) är ett vattenlösligt vitamin som absorberas i tarmen via en komplex process. 1-3 I mag-tarmkanalen binder vitamin B12 till bärarproteinet intrinsic factor (IF), vilket produceras av magsäcksslemhinnan, och hos hund även av epitelet i ductus pancreaticus. (1,3,4) Komplexet av vitamin B12 och IF binder sedan till cubam-receptorn i ileum där det genomgår receptormedierad endocytos. Cubam-receptorn består av subenheterna cubilin och amnionless och uttrycks i mikrovilli i distala tunntarmen och i njurens proximala tubuli. En mutation i antingen cubilin- eller amnionless-genen orsakar IGS och därmed förlust av cubam-funktion i både ileum och renala tubuli. (2,5)

Ärftlig malabsorption av vitamin B12 har tidigare rapporterats hos border collie, riesenschnauzer, beagle, australian shepherd och shar pei. (1,2,4,6-10) Imerslund-Gräsbecks syndrom hos riesenschnauzer och australian shepherd orsakas av mutationer i amnionless-genen, medan det hos border collie orsakas av en mutation i cubilin-genen. Sjukdomen har en autosomal recessiv arvgång. (2,5,11)

Hos däggdjur är vitamin B12 en essentiell kofaktor för aktiviteten hos enzymerna metylmalonyl-CoA-mutas och metioninsyntas. Minskad aktivitet av metylmalonyl-CoA-mutas orsakar

Analys	Resultat	Enhet	Referensintervall
Hemoglobin	89	g/L	132 - 199
Retikulocyter	286	109/L	10 - 85
Reticulocyter	7,6	%	0 - 1,5
Totalantal leukocyter ¹	5,2	109/L	5,8 - 16
Neutrofiler, stavkärniga	0,1	109/L	0 - 0,3
Neutrofiler, segmentkärniga	1,4	109/L	3 - 11,5
Eosinofiler	< 0,1	109/L	0,1 - 1,2
Basofiler	< 0,1	109/L	< 0,1
Lymfocyter	2,7	109/L	1,4 - 4,8
Monocyter	1,1	109/L	0,2 - 1,4
Kärnförande erythrocyter	340	/100 leukocyter	-
Kärnförande erythrocyter	17,7	109/L	0 - 0,2
Trombocytantal*	329	109/L	170 - 490

Tabell 1. Hematologieresultat samt manuell differentialräkning av leukocyter. Blodprov analyserat med Advia 2120 (Siemens Healthcare Diagnostics, Erlangen, Tyskland). ¹Leukocyttantalet är korrigerat för kärnförande erythrocyter. *Riklig förekomst av trombocyttaggregat sågs och trombocytantalet är sannolikt falskt lågt.

förhöjda koncentrationer av metylmalonsyra i serum och urin. Sänkt aktivitet av metioninsyntas resulterar i homocysteinemi och hämmad omvandling av 5-metyltetrahydrofolat till tetrahydrofolat, vilket är ett nödvändigt

steg i syntesen av purin, pyrimidin och aminosyror. Den minskade syntesen av nukleinsyror hämmar hematopoiesen genom att förhindra utmognad av snabbt delande celler i benmärgen. (12,13)

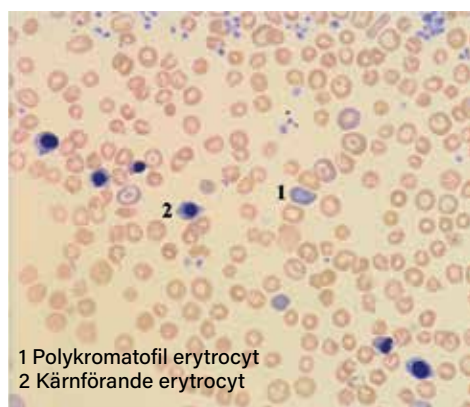
Tiken i denna fallrapport hade en måttlig neutropeni utan vänsterförskjut-

ning, vilket är ett vanligt förekommande fynd hos hundar med B12-brist eftersom produktionen av neutrofiler hämmas. (1,4,6) Neutropeni kan även orsakas av ökad perifer förbrukning i samband med inflammation, men det bedömdes som mindre sannolikt då det inte sågs någon vänsterförskjutning eller toxiska förändringar i neutrofilernas cytoplasma.

Anemi till följd av B12-brist har beskrivits som icke regenerativ, normocytär, normokrom (4,9) medan tiken i detta fall hade en tydligt regenerativ anemi. Regenerativa anemier ses vid blödning och hemolys. I detta fall fanns ingen historia av blodförlust. Det fanns en lindrig hemolys i plasman vilket kan ses vid hemolytisk anemi. Hemolytisk anemi kan orsakas av bland annat immunmedierad hemolytisk anemi, oxidativ skada, zink- och kopparförgiftning, hypofosfateri, blodparasiter samt enzymbrister som fosfofruktokinas (PFK)- och pyruvatkinas (PK)-brist.

I detta prov sågs ingen spontanagglutination eller sfärocytos, det vill säga inga tecken på immunmedierad hemolytisk anemi. Det sågs heller inga tecken på oxidativ skada i form av heinz-kroppar eller eccentrocyter. PCR-analys var negativ för *Babesia spp.* och *Theileria spp.*

Sammanfattningsvis hade tiken inga tecken på blödning eller hemolytisk anemi förutom lindrig hemolys i plasma, vilket är en



Blodutstryk färgat med May Grünwald-Giemsa, ca 500x förstoring. I blodutstryket ses måttlig polykromasi, måttlig anisocytos och rikligt med kärnförande erythrocyter.

vanlig in vitro artefakt. Orsaken till den regenerativa responsen hos denna hund med IGS är okänd, men intressant nog hade även ett kullsyskon med B12-brist en regenerativ anemi. Dessa är endast två fall, men de indikerar att IGS kan vara associerad med en regenerativ anemi hos border collies.

Hos denna tik sågs också en kraftig metarubricytos. Kärnförande erythrocyter kan vid anemi ses som en del av en regenerativ respons, men antalet kärnförande erythrocyter i detta fall var för stort för att enbart kunna förklaras av den regenerativa anemin. Metarubricytos har även tidigare beskrivits hos en border collie med IGS. (6)

Cubilin-genen uttrycks i njurtubuli och IGS hos border collies har tidigare associerats med en lindrig proteinuri. (1,5,6) Hunden i denna fallrapport hade 2+ protein i urinen enligt urinsticka, men det går inte att fastställa om proteinurin var orsakad av B12-bristen eftersom urinstickan också gav utslag för blod och det sågs växt av bakterier i urinen. Hundar med ärftlig malabsorption av vitamin B12 kan även uppvisa homocysteinemi och metylmalonsyreuri, (4,6) men de analyserna utfördes inte hos denna tik.

Kliniska fynd som tidigare rapporterats hos border collies med IGS är bland annat hämmad tillväxt och letargi vilket även sågs hos tiken i denna fallbeskrivning. (1,6) Även tikens ålder (1,5 år) är överensstämmande med tidigare rapporter där border collies med IGS har diagnosticerats vid upp till 42 månaders ålder. (1,6,9)

Sammanfattningsvis kan diffusa symtom som trötthet och dålig tillväxt, samt hematologiska störningar som anemi, neutropeni och metarubricytos hos border collies föranleda misstanke om IGS och ett genetiskt test finns numer kommersiellt tillgängligt bland annat vid Husdjursgenetiska laboratoriet, SLU. •



Här hittar du hela rapporten

Detta fall presenterades vid ESVCP-kongressen i Berlin 2013.
Länk till fullständig fallrapport: <https://pub.epsilon.slu.se/11810/>



Referenser

1. Battersby IA, Giger U, Hall EJ. Hyperammonaemic encephalopathy secondary to selective cobalamin deficiency in a juvenile Border collie. *J Small Anim Pract* 2005;46:339-344.
2. Owczarek-Lipska M, Jagannathan V, Drogemuller C, et al. A frameshift mutation in the cubilin gene (CUBN) in Border Collies with Imerslund-Grasbeck syndrome (selective cobalamin malabsorption). *PLoS One* 2013;8:e61144.
3. Fyfe JC, Madsen M, Hojrup 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. Fyfe JC, Giger U, Hall CA, et al. Inherited selective intestinal cobalamin malabsorption and cobalamin deficiency in dogs. *Pediatr Res* 1991;29:24-31.
5. Fyfe JC, Hemker SL, Venta PJ, et al. An exon 53 frameshift mutation in CUBN abrogates cubilin function and causes Imerslund-Grasbeck syndrome in dogs. *Mol Genet Metab* 2013.
6. Lutz S, Sewell AC, Reusch CE, et al. Clinical and laboratory findings in border collies with presumed hereditary juvenile cobalamin deficiency. *J Am Anim Hosp Assoc* 2013;49:197-203.
7. Grutzner N, Bishop MA, Suchodolski JS, et al. Association study of cobalamin deficiency in the Chinese Shar Pei. *J Hered* 2010;101:211-217.
8. Fordyce HH, Callan MB, Giger U. Persistent cobalamin deficiency causing failure to thrive in a juvenile beagle. *J Small Anim Pract* 2000;41:407-410.
9. Morgan LW, McConnell J. Cobalamin deficiency associated with erythroblastic anemia and methylmalonic aciduria in a border collie. *J Am Anim Hosp Assoc* 1999;35:392-395.
10. Bishop MA, Xenoulis PG, Berghoff N, et al. Partial characterization of cobalamin deficiency in Chinese Shar Peis. *Vet J* 2012;191:41-45.
11. He Q, Madsen M, Kilkenney A, et al. Amnionless function is required for cubilin brush-border expression and intrinsic factor-cobalamin (vitamin B12) absorption in vivo. *Blood* 2005;106:1447-1453.
12. Allen RH, Stabler SP, Savage DG, et al. Metabolic abnormalities in cobalamin (vitamin B12) and folate deficiency. *FASEB J* 1993;7:1344-1353.
13. Fyfe JC. Hematology of selective intestinal cobalamin malabsorption. In: Feldman BF, Zinkl J. G., Jain N., ed. *Schalm's veterinary hematology*, 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000:965-970.



Imerslund-Gräsbecks syndrom hos border collie orsakas av en mutation i cubilin-genen.