

Funkcionalni biomarkeri: kobalamin i folna kiselina u serumu pasa s kroničnim gastrointestinalnim poremećajima



Functional Biomarkers: Cobalamin and Folate in the Serum of Dogs with Chronic Gastrointestinal Disorders

Pongrac¹, E., D. Grden², M. Crnogaj³

Sažetak

Simptomi poremećaja funkcije gastrointestinalnog sustava među glavnim su problemima zbog kojih vlasnik dovodi svog psa na pregled veterinaru. Kronični gastrointestinalni problemi zahtijevaju opsežnu dijagnostiku te potom ciljano liječenje. Uz standardne dijagnostičke postupke posljednjeg desetljeća razvijaju se i druge pretrage, poput biomarkera koji bi mogli pomoći u dijagnostičkoj procjeni ili prognozi u pacijenata s kroničnim gastrointestinalnim poremećajima. Specifične promjene u serumskim koncentracijama kobalamina i folne kiseline mogu dati informacije o

lokalizaciji bolesti crijeva. Postoji povezanost između promjena u serumskim koncentracijama kobalamina i folne kiseline i dijagnoza poput egzokrine pankreasne insuficijencije, sindroma smanjene apsorpcije ili malapsorpcije te upalne bolesti crijeva i limfoma, što može poslužiti pri odabiru daljnjih dijagnostičkih postupaka. Smanjenu koncentraciju kobalamina i albumina u serumu kod kroničnih gastrointestinalnih poremećaja prati nepovoljna prognoza bolesti.

Ključne riječi: biomarkeri, serum pasa, kobalamin, folna kiselina, kronične enteropatije

Uvod

Simptomi poremećaja funkcije gastrointestinalnog sustava među glavnim su problemima zbog kojih vlasnik dovede svojega psa na pregled veterinaru. Akutni problemi često prođu uz manju ili nikakvu intervenciju veterinaru, dok kronični gastrointestinalni problemi zahtijevaju opsežnu dijagnostiku te potom ciljano liječenje. Uz standardne dijagnostičke postupke (klinički pregled, slikovnu i laboratorijsku dijagnostiku, parazitološke pretrage,

endoskopiju / dijagnostičku laparotomiju s biopsijama) posljednjeg desetljeća razvijaju se i druge pretrage, poput biomarkera koji bi mogli pomoći u dijagnostičkoj procjeni i praćenju pacijenata ili procjeni odgovora na različite oblike liječenja. Kobalamin i folna kiselina u pasa su najvažniji kao biomarkeri indikatori gastrointestinalnih poremećaja (WASHABAU, 2013.). Određivanje koncentracije kobalamina i folne kiseline u serumu može usmjeriti

¹ Asist. Elizabeta Pongrac, dr. med. vet., Klinika za unutarnje bolesti, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

² doc. dr. sc. Darko Grden, Klinika za unutarnje bolesti, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

³ izv. prof. dr. sc. Martina Crnogaj, Klinika za unutarnje bolesti, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

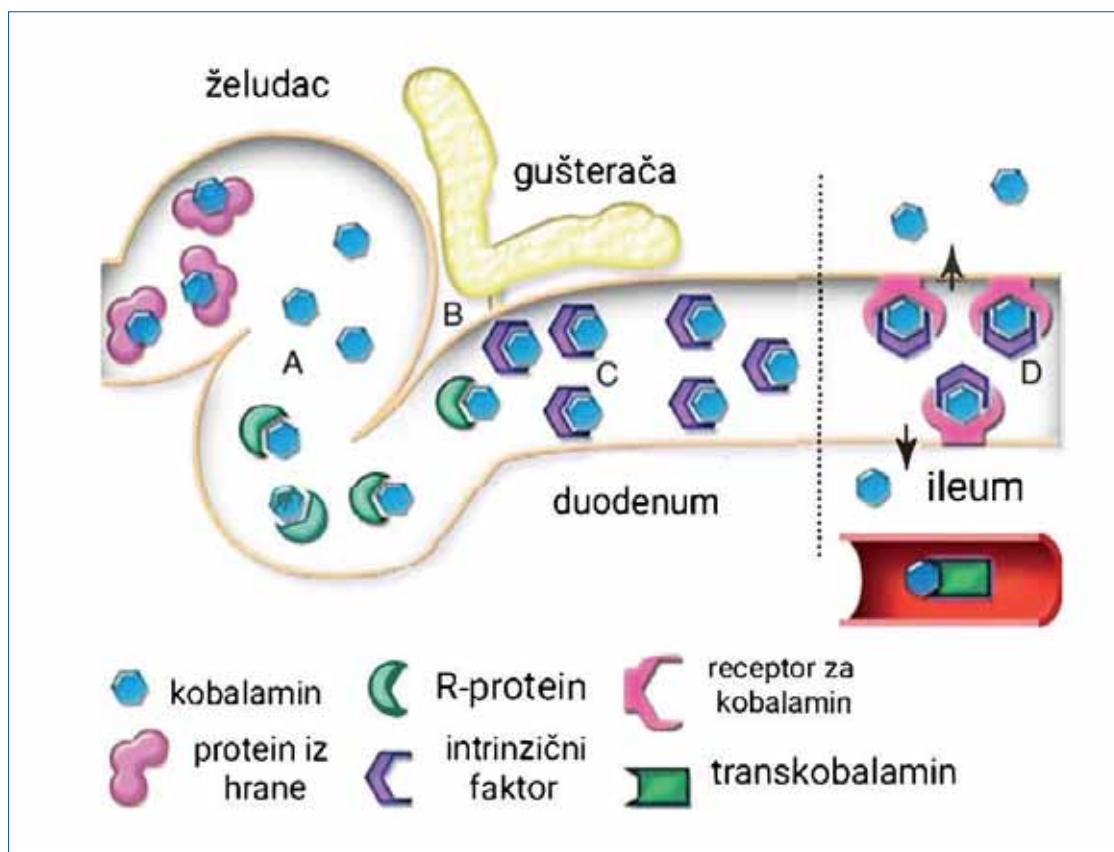
prema sastavljanju liste diferencijalnih dijagnoza u pacijenata s kroničnim proljevom, povraćanjem ili kroničnim gubitkom tjelesne mase (WILLARD, 2020.).

Metabolizam kobalamina u pasa

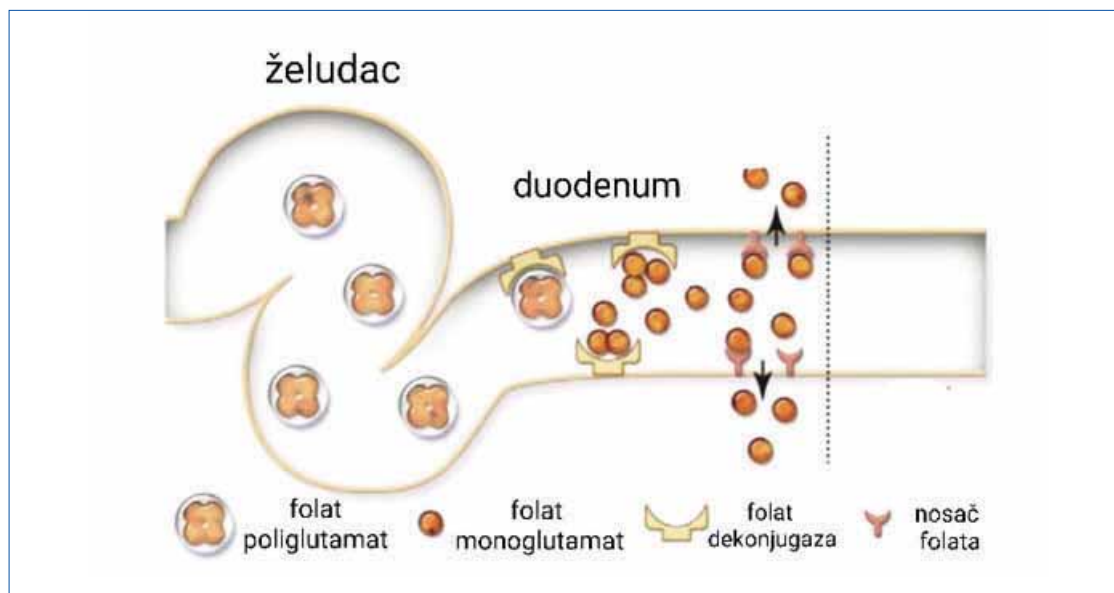
Kobalamin (vitamin B₁₂) vitamin je topljiv u vodi, a njegov je glavni izvor hrana životinjskog podrijetla. Malu količinu kobalamina može proizvesti i mikrobiom probavnog trakta. Preživači i drugi biljojedi imaju sposobnost proizvodnje kobalamina u svom gastrointestinalnom sustavu, dok svezjedi i mesojedi nemaju tu mogućnost. Mikrobiom probavnog sustava pasa može proizvesti kobalamin iz kobalta, ali s obzirom na to da je mjesto proizvodnje kobalamina tada distalnije od mjesta njegove apsorpcije, tako proizveden kobalamin nije od prevelikog značenja za životinju (KATHER i sur., 2019.; MARSILIO, 2024.). Kobalamin iz hrane vezan je za protein iz hrane i u želucu biva oslobođen pod djelovanjem pepsina i

želučane kiseline (SUCHODOLSKI, 2006.). Kobalamin se nakon toga veže za glikoprotein R-protein (haptokorin, transkobalamin I) koji je prisutan u želučanom soku i slini i štiti kobalamin od bakterijskog iskorištavanja u proksimalnim dijelovima probavnog trakta (WASHABAU, 2013.).

U duodenumu od kompleksa R-protein-kobalamin odvaja se R-protein djelovanjem pankreasne proteaze, a kobalamin se dalje veže za intrinzični faktor (IF) koji ima jednu od glavnih uloga u apsorpciji kobalamina. On se u pasa primarno sintetizira u gušterači, ali u manjem opsegu može se sintetizirati i u želucu (GERMAN, 2013.). Mjesto je apsorpcije kobalamina u ileumu gdje se nalaze visokospecifični receptori za kompleks kobalamin-IF (RUAUX, 2006.). Kobalamin se u ileumu odvaja od IF-a pomoću lizosoma u enterocitima te se veže na novi prijenosni protein, transkobalamin II, nakon čega bude transportiran kroz krvotok do ciljnih tkiva (KATHER i sur., 2019.) (slika 1.).



Slika 1. Apsorpcija kobalamina u probavnom sustavu (modificirano prema: HALL, 2013. U: Canine and Feline Gastroenterology (Washabu R. J., M. J. Day). Elsevier Saunders. St. Louis, Missouri. 651-663)



Slika 2. Apsorpcija folne kiseline u probavnom sustavu (modificirano prema: HALL, 2013. U: Canine and Feline Gastroenterology (Washabu R.J., M.J. Day). Elsevier Saunders. St. Louis, Missouri. 651-663)

Metabolizam folne kiseline u pasa

Folna kiselina ili folat (vitamin B₉) vitamin je topljiv u vodi. U hrani je prisutan kao folat-glutamat te se u tom obliku ne može apsorbirati (HALL, 2013.). U duodenumu dolazi do dekonjugacije folat-poliglutamata u folat-monoglutamat pomoću enzima sluznice tankog crijeva. Nadalje, folat-monoglutamat biva apsorbiran putem specifičnih nosača za folnu kiselinu koji su smješteni u sluznici duodenuma (RU-AUX, 2008.) (slika 2.)

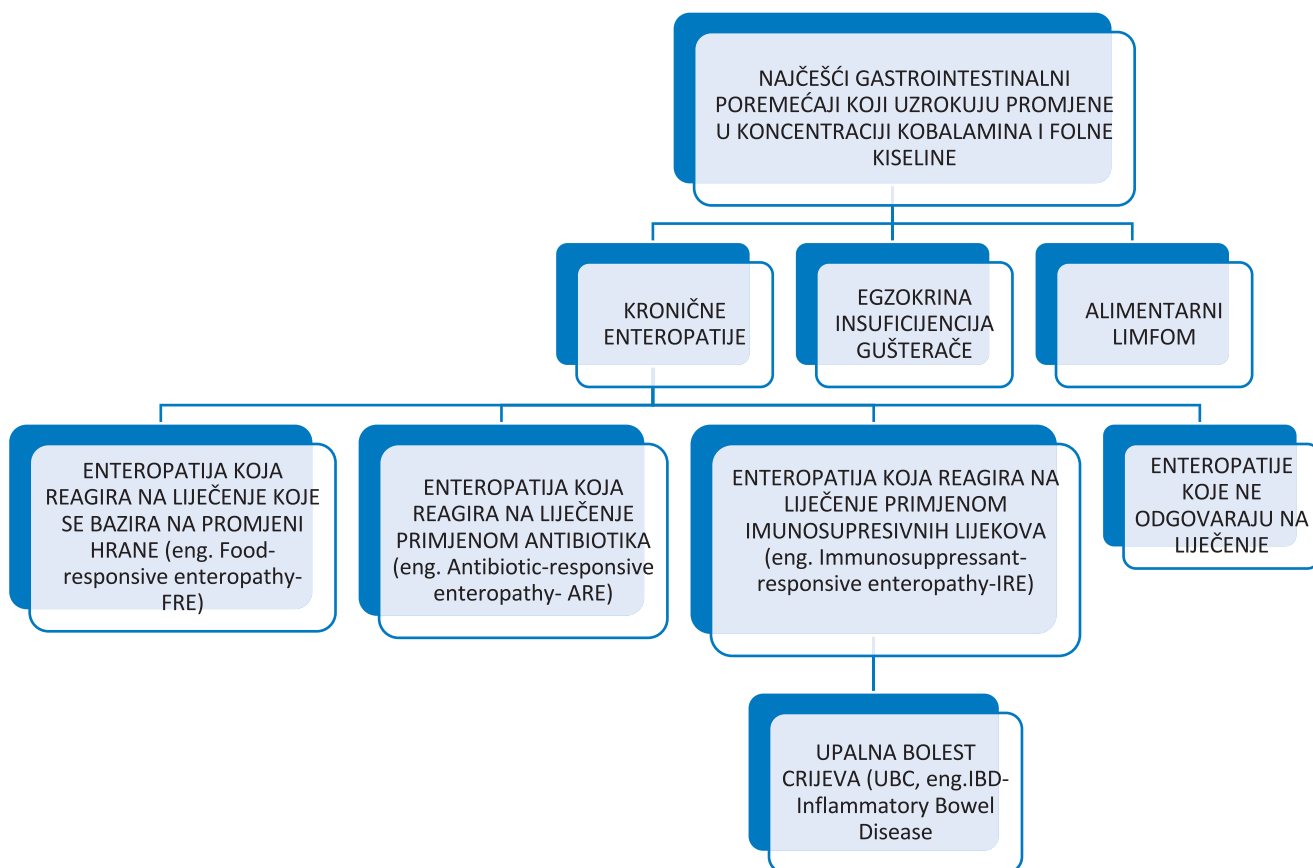
Najčešći gastrointestinalni poremećaji koje prati poremećaj metabolizma kobalamina i folne kiseline u pasa

Apsorpcija kobalamina i folne kiseline u tankom crijevu ovisi o mnogim čimbenicima te se koncentracija navedenih vitamina u serumu može koristiti za procjenu gastrointestinalne bolesti. S obzirom na različita mjesta apsorpcije kobalamina i folne kiseline u tankom crijevu, njihova koncentracija u serumu može pomoći u lokalizaciji procesa u crijevima (RU-AUX, 2008.). Najčešći gastrointestinalni poremećaji koje prati poremećeni metabolizam kobalamina i folne kiseline jesu kronične upalne enteropatije, egzokrina insuficijencija gušterače i alimentarni lim-

fom (grafikon 1.). Svima su im zajednički simptomi: povraćanje, proljev, anoreksija, letargija i sl. (KATHER i sur., 2019.).

Kronične upalne enteropatije (engl. *chronic inflammatory enteropathies*, CIE) skupina su gastrointestinalnih poremećaja koje prate kronični (traju tri tjedna ili duže) i rekurentni klinički znakovi bolesti gastrointestinalnog sustava (DUPOUY-MANESCAU i sur., 2024.) te histopatološki upala sluznice (HEILMANN i STEINER, 2018.). Klasificiraju se prema odgovoru na liječenje kao: (1) enteropatija koja reagira na liječenje koje se temelji na promjeni hrane (engl. *food-responsive enteropathy*, FRE), (2) enteropatija koja reagira na liječenje primjenom antibiotika (engl. *antibiotic-responsive enteropathy*, ARE), (3) enteropatija koja reagira na liječenje primjenom imunosupresivnih lijekova (engl. *immunosuppressant-responsive enteropathy*, IRE) i (4) enteropatija koja ne reagira na liječenje. Kronične enteropatije obilježavaju kronični perzistentni ili rekurentni klinički probavni simptomi, povraćanje, proljev, gubitak tjelesne mase i slično, a dijagnosticiraju se na temelju odgovora na terapiju (KATHER i sur., 2019.) izuzev IRE-a koji se dijagnosticira histopatološkom pretragom nakon biopsije probavnog sustava (HEILMANN i STEINER, 2018.).

Egzokrinu insuficijenciju gušterače (engl. *exocrine pancreatic insufficiency*, EPI) prati nedostatna



Grafikon 1. Najčešći gastrointestinalni poremećaji koji uzrokuju promjenu u koncentraciji kobalamina i folne kiseline

produkcija probavnih enzima što dovodi do nedovoljne apsorpcije hranjivih tvari i kliničkih znakova kao što su gubitak težine unatoč normalnom ili povećanom apetitu te kronični proljevi (WESTERMARCK i WIBERG, 2012.).

Osim klasifikacije prema odgovoru na terapiju, postoji i podjela s obzirom na gubitak proteina kroz probavni sustav na enteropatiju s gubitkom proteina (engl. *protein-losing enteropathy*, PLE) i na onu bez gubitka proteina. Sve navedene kronične upalne enteropatije mogu se pojaviti s gubitkom proteina i bez gubitka proteina (DANDRIEUX i MANSFIELD, 2019.). Najčešće se povezuje sa sekundarnom limfangiektazijom koja se pojavljuje zbog limfoplazmicitnog enteritisa, ali može se pojaviti i kod infiltrativnih procesa kao što je limfom i kod svih drugih kroničnih enteropatija (ALLENSPACH i IENNARELLA-SERVANTEZ, 2020.). Najčešće komplikacije PLE-a jesu smanjena koncentracija kobala-

mina, hiperkoagulabilnost, hipokalcemija i izljev u prsnu i/ili trbušnu šupljinu (CRAVEN i WASHABAU, 2018.).

Koncentracija kobalamina i folne kiseline u serumu u pasa

Kobalamin i folna kiselina funkcionalni su biomarkeri pomoću kojih se procjenjuje gastrointestinalna permeabilnost i apsorpcija. Određivanje koncentracije kobalamina i folne kiseline u serumu može usmjeriti prema sastavljanju liste diferencijalnih dijagnoza u pacijenata s kroničnim proljevom ili kroničnim gubitkom tjelesne mase. Ovisno o smanjenoj ili povećanoj koncentraciji kobalamina i folne kiseline, može se suziti izbor diferencijalnih dijagnoza (HEILMANN i STEINER, 2018.; RUAUX, 2006.).

Fiziološka vrijednost kobalamina u serumu psa je između 221 i 590 pmol/L (referentna vrijednost

Tablica 1. Interpretacija koncentracije kobalamina i folne kiseline u serumu kod pasa (modificirano po RUAUX, 2008.)

| KONCENTRACIJA KOBALAMINA U SERUMU | | | | |
|-----------------------------------|-----------------|---|---|--|
| KONCENTRACIJA FOLATA U SERUMU | POVIŠENA | NORMALNA | SNIŽENA | |
| | POVIŠENA | <ul style="list-style-type: none"> povećan broj bakterija u duodenumu ARE | <ul style="list-style-type: none"> povećan broj bakterija u duodenumu ARE | <ul style="list-style-type: none"> ARE ili bolesti koje zahvaćaju ileum odrediti koncentraciju TLI kako bi se isključio EPI |
| | NORMALNA | <ul style="list-style-type: none"> kronični upalni ili neoplastični procesi | <ul style="list-style-type: none"> ne isključuje gastrointestinalni poremećaj | <ul style="list-style-type: none"> bolesti koje zahvaćaju ileum odrediti koncentraciju TLI kako bi se isključio EPI |
| | SNIŽENA | <ul style="list-style-type: none"> bolesti koje zahvaćaju duodenum IBD, limfom, gljivična infekcija probavnog sustava | <ul style="list-style-type: none"> bolesti koje zahvaćaju duodenum IBD, limfom, gljivična infekcija probavnog sustava | <ul style="list-style-type: none"> difuzne bolesti sluznice probavnog sustava IBD, limfom, gljivična infekcija probavnog sustava |

ARE – antibiotic-responsive enteropathy; **TLI** – trypsin-like immunoreactivity; **EPI** – exocrine pancreatic insufficiency; **IBD** – inflammatory bowel disease

laboratorija Synlab). Postoje blaga odstupanja u referentnim vrijednostima među pojedinim laboratorijima. Međutim, koncentracija kobalamina u serumu nije uvijek pravi pokazatelj stanja na staničnoj razini. Ako je prijenos kobalamina u stanicu poremećen, može doći do smanjene koncentracije kobalamina u stanicama dok je istodobno koncentracija kobalamina u serumu nepromijenjena (KATHER i sur., 2019.). Nalaz kobalamina u referentnim vrijednostima ne isključuje kronične enteropatije (HEILMANN i STEINER, 2018.).

Smanjena koncentracija kobalamina najčešće se pojavljuje u pasa s kroničnim enteropatijama, s egzokrinom insuficijencijom gušterače i kod alimentarnog limfoma (HEILMANN i STEINER, 2018.). Osim toga, smanjena koncentracija vitamina B₁₂ u određenih pasmina pasa (veliki šnauzer, bigl i border koli) može biti i nasljedna (graničarski ovčar) (JABLONSKI i CRIDGE, 2024.). Smanjena koncentracija kobalamina u pasa s kroničnim enteropatijama i kroničnim proljevima nepovoljan je prognostički faktor (TORESSON i sur., 2019.). Povećana koncentracija kobalamina najčešće je prisutna kod gastrointestinalnih bolesti (najčešće kod FRE-a, hemoragijskog gastroenteritisa, akutnog gastritisa i u slučaju stranog tijela u probavnom sustavu), kod bolesti jetre (kronični hepatitis i

portosistemska anastomoza), kod endokrinoloških bolesti (*diabetes mellitus* i hiperadrenokorticism), kod kroničnog zatajenja bubrega i kod neoplazija (RIZ i sur., 2021.).

Fiziološka koncentracija folne kiseline u serumu psa kreće se od 7,5 do 17,5 ng/mL (referentna vrijednost laboratorija Synlab), uz blaga odstupanja u referentnim vrijednostima među pojedinim laboratorijima. Koncentracija folne kiseline u serumu ne mora uvijek biti točan pokazatelj stanja na staničnoj razini (STANLEY i sur., 2018.).

Smanjena koncentracija folne kiseline u serumu pojavljuje se zbog kronične malapsorpcije u proksimalnim dijelovima tankog crijeva (HEILMANN i STEINER, 2018.). Povećana koncentracija folne kiseline u serumu može biti indikator ARE-a. Bakterije u ileumu i debelom crijevu mogu proizvesti velike količine folata. Zbog toga što su nosači folne kiseline smješteni u duodenumu, folat koji se proizvede u distalnim dijelovima crijeva ne može se apsorbirati. Ako bakterije prerastu u duodenumu, gdje je mjesto apsorpcije folne kiseline, folna kiselina bit će apsorbirana što će uzrokovati povećanje koncentracije u serumu (WASHABAU 2013.).

Zaključak

Kobalmin i folna kiselina najvažniji su biomarkeri indikatori gastrointestinalnih poremećaja. Određivanje koncentracije kobalamina i folne kiseline u serumu može pomoći u sastavljanju liste diferencijalnih dijagnoza. Najčešći gastrointestinalni poremećaji koje prate poremećeni metabolizam kobalamina i folne kiseline u pasa su FRE, IRE, ARE, EPI i limfom.

Literatura

1. ALLENSPACH, K., C. IENNARELLA-SERVANTEZ (2020): Canine protein losing enteropathies and systemic complications. *Vet. Clin. Small Anim.* 51, 111-122. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2020.09.010>
2. CRAVEN, M. D., R. J. WASHABAU (2018): Comparative pathophysiology and management of protein-losing enteropathy. *J. Vet. Intern. Med.* 33, 383-402. doi: <https://doi.org/10.1111/jvim.15406>
3. DANDRIEUX, J. R. S., C. S. MANSFIELD (2019): Chronic Enteropathy in Canines: Prevalence, Impact and Management Strategies. *Vet. Med. (Auckl.)* 10, 203-214. doi: <https://doi.org/10.2147/VMRR.S162774>
4. DUPOUY-MANESCAU, N., T. MÉRIC, O. SÉNÉCAT, A. DRUT, S. VALENTIN, R. O. LEAL, J. HERNANDEZ (2024): Updating the classification of chronic inflammatory enteropathies in dogs. *Animals (Basel)* 14. doi: <https://doi.org/10.3390/ani14050681>
5. GERMAN, A. J. (2013): Diseases of gastrointestinal tract: Bacterial overgrowth (Intestinal dysbiosis). U: *Canine and Feline Gastroenterology* (Washabu, R. J., M. J. Day, Ur.), Elsevier Saunders, St. Louis, Missouri. S. 695-699.
6. HALL, E. J. (2013): Diseases of gastrointestinal tract: Structure and function. U: *Canine and Feline Gastroenterology* (Washabu, R. J., M. J. Day, Ur.), Elsevier Saunders, St. Louis, Missouri. S. 651-663.
7. HEILMANN, R. M., J. M. STEINER (2018): Clinical utility of currently available biomarkers in inflammatory enteropathies of dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 32, 1495-1508. doi: <https://doi.org/10.1111/jvim.15247>
8. JABLONSKI, S., H. CRIDGE (2024): Small intestinal diseases. U: *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (Ettinger, J., Feldman, E., Cote, E., Ur.), 9th ed., Saunders. S. 4776-5136.
9. KATHER, S., N. GRÜTZNER, P. H. KOOK, F. DENGLER, R. M. HEILMANN (2019): Review of cobalamin status and disorders of cobalamin metabolism in dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 34, 13-28. doi: <https://doi.org/10.1111/jvim.15638>
10. MARSILIO, S. (2024): Laboratory evaluation of the gastrointestinal tract: Laboratory tools to assess intestinal function and disease. U: *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (Ettinger, J., Feldman, E., Cote, E., Ur.), 9th ed., Saunders. S. 4635-4654.
11. RIZ, F. D., P. HIGGS, G. RUIZ (2021): Diseases associated with hypercobalaminemia in dogs in the United Kingdom: A retrospective study of 47 dogs. *Can. Vet. J.* 62, 611-616.
12. RUAUX, C. G. (2008): Diagnostic tools: Laboratory tests for the diagnosis of intestinal disorders. U: *Small Animal Gastroenterology* (J. M. Steiner, Ur.), Schlütersche Verlagsgesellschaft, Hannover. S. 50-55.
13. STANLEY, E., E. APPLEMAN, A. SCHLAG, A. SIEGEL (2018): Relationship between cobalamin and folate deficiencies and anemia in dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 33, 106-113. doi: <https://doi.org/10.1111/jvim.15348>
14. SUCHODOLSKI, J. S. (2008): Laboratory assessment of gastric disease. U: *Small Animal Gastroenterology* (Steiner, J. M., Ur.), Schlütersche Verlagsgesellschaft, Hannover. S. 48-49.
15. TORESSON, L., J. M. STEINER, E. SPODSBERG, G. OLMEDAL, J. S. SUCHODOLSKI, J. A. LIDBURY, T. SPILLMANN (2019): Effects of oral versus parenteral cobalamin supplementation on methylmalonic acid and homocysteine concentrations in dogs with chronic enteropathies and low cobalamin concentrations. *Vet. J.* 243, 8-14.
16. WASHABAU, R. J. (2013): Integration of gastrointestinal function. U: *Canine and Feline Gastroenterology* (Washabu, R. J., M. J. Day, Ur.), Elsevier Saunders, St. Louis, Missouri. S. 1-31.
17. WILLARD, M. D. (2020): Disorders of the intestinal tract: Diagnostic tests for the alimentary tract. U: *Small Animal Internal Medicine* (Nelson, R., Couto, G., Ur.), 6th ed., Mosby Elsevier, Missouri. S. 412-431.
18. WESTERMARCK, E., M. WIBERG (2012): Exocrine pancreatic insufficiency in the dog: Historical background, diagnosis and treatment. *Companion Anim.*

Functional Biomarkers: Cobalamin and Folate in the Serum of Dogs with Chronic Gastrointestinal Disorders

Abstract

The symptoms of gastrointestinal disorders are one of the main problems for which dog owners take their dogs to the vet. Chronic gastrointestinal problems require a comprehensive diagnosis, complemented by specific treatment. Cobalamin and folate are functional biomarkers of gastrointestinal permeability and absorption function. Fluctuations in serum cobalamin and folate concentrations may indicate localization on the basis of their absorption in different parts of the intestine (cobalamin is absorbed in the distal small intestine and folate in the

proximal small intestine) and help in the diagnosis of a specific intestinal disease. There is a correlation between changes in serum cobalamin and folate concentrations and Exocrine Pancreatic Insufficiency (EPI), Antibiotic-Responsive Enteropathy (ARE), Immunosuppressive-Responsive Enteropathy (IRE) and lymphoma. Decreased serum cobalamin and albumin concentrations in chronic gastrointestinal diseases are a negative prognostic indicator.

Key words: *dog; cobalamin; folate; chronic enteropathies; exocrine pancreatic insufficiency, lymphoma*