

Ácido metilmalônico no diagnóstico das anemias megaloblásticas

Methylmalonic acid in diagnosis of megaloblastic anemias

Caroline Pereira Domingueti
Ana Paula Salles Moura Fernandes
Karina Braga Gomes Borges
Luci Maria Sant'Ana Dusse
Maria das Graças Carvalho

Resumo

As principais causas de anemia megaloblástica consistem nas deficiências de vitamina B12 e/ou de ácido fólico, sendo muito importante o diagnóstico diferencial entre estas deficiências, já que a administração de ácido fólico a pacientes com deficiência de vitamina B12 pode corrigir as alterações hematológicas sem impedir a progressão da doença neurológica. As manifestações neurológicas da deficiência de vitamina B12 podem ocorrer mesmo quando os níveis plasmáticos desta vitamina estão dentro dos valores de referência, de modo que também é muito importante o diagnóstico da doença subclínica. A determinação de parâmetros associados à vitamina B12, como ácido metilmalônico e homocisteína, tem emergido como ferramenta adicional para melhorar o diagnóstico desta doença subclínica como também tem facilitado a realização do diagnóstico diferencial entre as deficiências de vitamina B12 e de ácido fólico. Dessa forma, a determinação destes parâmetros constitui uma ferramenta com grande potencialidade para aperfeiçoar o diagnóstico das anemias megaloblásticas nos laboratórios clínicos. Considerando as limitações relacionadas à determinação e interpretação dos níveis plasmáticos de vitamina B12, o principal objetivo desta revisão consiste em alertar os profissionais que lidam com esta questão sobre a importância da doença subclínica e dos métodos laboratoriais mais recentes potencialmente aplicáveis para melhorar o diagnóstico desta condição. Todavia, muitas lacunas ainda persistem quanto à devida abordagem e confirmação de casos suspeitos de deficiência de vitamina B12 e/ou ácido fólico, o que indubitavelmente demanda estudos adicionais.

Palavras-chave

Ácido fólico; Vitamina B12; Ácido metilmalônico; Homocisteína; Anemia megaloblástica.

INTRODUÇÃO

As anemias megaloblásticas consistem em um grupo de doenças com alterações morfológicas similares na medula óssea, que cursam com macrocitose. Estas alterações possuem em comum uma redução na síntese de DNA, o que leva a um comprometimento da hematopoiese normal e ao surgimento de alterações morfológicas nos precursores dos eritrócitos, leucócitos e plaquetas. Além disso, ocorrem alterações em outros locais onde há grande proliferação celular, como intestino delgado, língua e útero. Contudo, as alterações da medula óssea são as mais expressivas.⁽¹⁾

Dentre as anemias megaloblásticas, destaca-se por sua importância clínica a anemia perniciosa, a qual resulta da deficiência de vitamina B12. A anemia perniciosa clássica geralmente não apresenta grandes dificuldades para o diagnóstico, já que os pacientes portadores desta doença apresentam os sintomas característicos de anemia macrocítica, glossite e alterações neurológicas, sendo então facilmente reconhecidos. O principal desafio diagnósti-

co consiste nos pacientes que desenvolvem uma deficiência leve ou subclínica de vitamina B12, frequentemente sem a presença de anemia. Embora seja difícil diagnosticar estes pacientes, é importante fazê-lo, pois as manifestações neurológicas podem ser irreversíveis se o tratamento for iniciado tardiamente. Este desafio diagnóstico levou à pesquisa por marcadores bioquímicos precoces da deficiência de vitamina B12 e, assim, ao desenvolvimento de métodos aperfeiçoados para a determinação de dois metabólitos que se acumulam quando há deficiência de vitamina B12: o ácido metilmalônico plasmático e urinário e a homocisteína total plasmática.⁽²⁾

Vitamina B12 (cobalamina)

A vitamina B12 corresponde somente à cianocobalamina, contudo, várias outras cobalaminas possuem propriedades nutricionais idênticas, de modo que, na literatura hematológica, os termos cobalamina e vitamina B12 são utilizados como sinônimos. A vitamina B12 é sintetizada pelas bactérias e é encontrada no solo e na água contami-

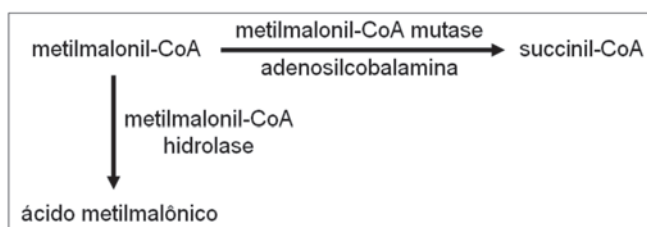
nada. Alimentos de origem animal (carne, ovos e leite) consistem nas fontes dietéticas primárias. A quantidade média de vitamina B12 na dieta ocidental (5 µg a 15 µg/dia) é mais do que suficiente para suprir as necessidades diárias de 2 µg/dia. Assim, exceto pelos vegetarianos estritos, a presença de deficiência de vitamina B12 geralmente resulta de um problema na absorção desta vitamina. O corpo armazena uma grande quantidade de vitamina B12 (2 mg a 5 mg) em relação aos requerimentos diários. Assim, são necessários de dois a cinco anos para o desenvolvimento da deficiência de vitamina B12, mesmo ocorrendo uma grande deficiência na absorção.⁽³⁾

Após a ingestão de produtos de origem animal, a vitamina B12 presente nestes alimentos chega ao estômago ligada a proteínas animais, onde esta é liberada pela ação da pepsina e do ácido clorídrico, e se liga à haptocorrina produzida pelas glândulas salivares. No intestino, a haptocorrina é degradada pelas enzimas pancreáticas, e a vitamina B12 se liga ao fator intrínseco, uma proteína sintetizada pelas células parietais gástricas e secretada no suco gástrico. O complexo fator intrínseco-vitamina B12 é internalizado na parte distal do intestino, no íleo terminal, através do receptor deste complexo, e, então, o fator intrínseco é degradado por proteólise, de modo que somente a vitamina B12 entra na circulação sistêmica. Acredita-se que aproximadamente 1% da vitamina B12 ingerida é absorvida por difusão passiva na sua forma livre, o que explica o fato da deficiência de vitamina B12 poder ser tratada com uma grande dose de vitamina B12 oral. Na circulação, a vitamina B12 se liga à transcobalamina II ou às haptocorrinas plasmáticas (transcobalaminas I e III). A vitamina B12 ligada à transcobalamina II consiste na holotranscobalamina, a qual representa a fração biologicamente ativa que é liberada em todos os tecidos do corpo, enquanto que a função das haptocorrinas é desconhecida.^(2,4) Alguns estudos têm sugerido que a determinação da holotranscobalamina plasmática consiste em um método mais confiável para avaliar a vitamina B12 biologicamente ativa e a disponibilidade desta para os tecidos do que a vitamina B12 total, contudo, sua utilidade clínica ainda não está bem estabelecida.⁽⁵⁾ Após a captação celular da holotranscobalamina, a transcobalamina II é degradada, e a vitamina B12 atua como uma coenzima em reações enzimáticas.⁽²⁾

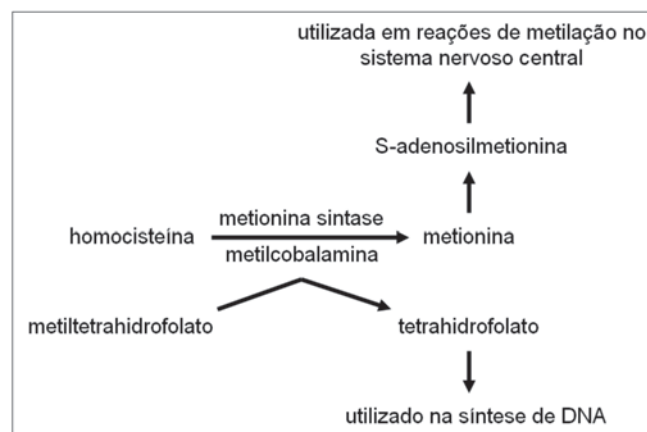
Nos mamíferos, apenas duas reações enzimáticas dependentes da vitamina B12 foram identificadas. Uma delas envolve a conversão do metilmalonil-CoA a succinil-CoA, catalisada pela enzima metilmalonil-CoA mutase, utilizando a adenosilcobalamina como cofator (Quadro 1). A deficiência de vitamina B12 resulta em um aumento de metilmalonil-CoA e do produto da sua hidrólise, o ácido metilmalônico. A outra reação dependente da vitamina B12 envolve a conversão da homocisteína à metionina catalisada pela enzima metionina sintase, utilizando a metilcobalamina

como cofator, que é acompanhada, na mesma reação enzimática, da conversão do metiltetrahydrofolato a tetrahydrofolato (Quadro 2). Como o tetrahydrofolato é necessário para a síntese normal de DNA, a deficiência de vitamina B12 resulta em um comprometimento da síntese de DNA, o que impede a divisão celular na medula óssea e resulta no desenvolvimento de uma hematopoiese megaloblástica. Além disso, o comprometimento desta reação enzimática na deficiência de vitamina B12 resulta em um aumento dos níveis plasmáticos de homocisteína total.⁽³⁾

A produção de S-adenosilmetionina a partir da metionina é crítica para a função do sistema nervoso, o que explica os efeitos neuropáticos da deficiência de vitamina B12. Embora o folato seja necessário para a produção de S-



Quadro 1. Conversão do metilmalonil-CoA a succinil-CoA catalisada pela enzima metilmalonil-CoA mutase, utilizando a adenosilcobalamina como cofator, e conversão do metilmalonil-CoA a ácido metilmalônico catalisada pela enzima metilmalonil-CoA hidrolase.



Quadro 2. Conversão da homocisteína a metionina catalisada pela enzima metionina sintase, utilizando a metilcobalamina como cofator e o metiltetrahydrofolato como cossubstrato.

adenosilmetionina, as complicações neurológicas são incomuns na deficiência de ácido fólico, provavelmente porque a célula desenvolve mecanismos alternativos que preservam o suprimento de S-adenosilmetionina quando há privação de folato.⁽⁶⁾

Ao contrário do folato da dieta, o ácido fólico sintético (ácido pteroilglutâmico) é reduzido diretamente a tetrahydrofolato sem a necessidade da vitamina B12 como cofator. Por isso, a administração de suplementos de ácido

fólico a pacientes com deficiência de vitamina B12 pode corrigir as alterações hematológicas megaloblásticas, mas sem impedir a progressão da doença neurológica, de modo que o tratamento inadequado da deficiência de vitamina B12 com ácido fólico pode causar uma degeneração nervosa irreversível.⁽³⁾

A deficiência de vitamina B12 deve ser suspeitada em todos os pacientes com anemia inexplicada e/ou sintomas neurológicos, assim como nos indivíduos com risco de desenvolvimento de deficiência de vitamina B12, como os idosos, os pacientes com doenças intestinais e os vegetarianos estritos.⁽⁷⁾ As gestantes vegetarianas constituem um grupo de elevado risco, já que a deficiência desta vitamina durante a gestação pode levar à má formação fetal decorrente de defeitos no desenvolvimento do tubo neural.⁽⁸⁾

Os sintomas neurológicos mais comuns são parestesia das extremidades, entorpecimento, fraqueza muscular e ataxia, embora demência e psicose também possam ocorrer.⁽⁹⁾ Embora as anormalidades hematológicas frequentemente se desenvolvam antes do estabelecimento da doença neurológica, mais de um quarto dos pacientes com manifestações neurológicas da deficiência de vitamina B12 apresentam ou o hematócrito normal ou o volume corpuscular médio normal, sendo que, algumas vezes, ambos são normais.⁽¹⁰⁾ A deficiência de vitamina B12 também está associada a um risco aumentado para o desenvolvimento de lesões vasculares oclusivas secundárias à hiper-homocisteinemia.⁽¹¹⁾

A principal causa da deficiência de vitamina B12 consiste em má absorção, a qual pode ser decorrente de anemia perniciosa (uma doença autoimune, em que ocorre atrofia e inflamação crônica da mucosa gástrica, levando à ausência de fator intrínseco e da secreção de ácido clorídrico), insuficiência pancreática, doença ou ressecção ileal, gastrectomia parcial ou total, gastrite atrófica, má absorção da vitamina B12 ligada às proteínas, deficiência congênita ou anormalidade do fator intrínseco, induzida por fármacos (colchicina, neomicina, ácido p-aminosalicílico, omeprazol, colestiramina, antagonistas H2). Além disso, a deficiência de vitamina B12 pode ser resultante da carência na dieta devido ao vegetarianismo estrito; da competição biológica da vitamina B12 da dieta devido a uma proliferação de bactérias no intestino, que consomem a vitamina B12, ou a uma infestação pelo cestódeo *Diphyllobotrium latum*; ou da deficiência na utilização da vitamina devido à deficiência congênita de transcobalamina II, que é o seu transportador.⁽¹⁾

Uma circulação entero-hepática ativa conserva a vitamina B12 no corpo, sendo que, uma vez que a vitamina B12 retorna ao intestino pela bile, o fator intrínseco é novamente necessário para a reabsorção. Quando comparados com os pacientes que apresentam anemia perniciosa, os vegetarianos estritos, os quais produzem normalmente o fator

intrínseco, retêm mais vitamina B12 da circulação entero-hepática, e, assim, demoram mais para se tornarem deficientes em vitamina B12 (dez a vinte anos).⁽³⁾

A deficiência subclínica de vitamina B12 é comum entre os indivíduos idosos, podendo resultar em graves problemas neurológicos.⁽¹²⁾ Devido ao elevado risco de desenvolvimento de deficiência de vitamina B12 entre os idosos e vegetarianos nos países mais ricos e à grande prevalência da deficiência desta vitamina nas populações dos países mais pobres, tem sido considerada a possibilidade de se utilizarem suplementos vitamínicos e/ou alimentos fortificados com vitamina B12 para reduzir o risco de deficiência desta vitamina nestas populações e também entre as gestantes.^(13,14)

Ácido fólico (folato)

O termo ácido fólico pode designar um composto específico, ácido pteroilglutâmico, porém este é mais comumente utilizado como um termo geral de uma classe de compostos relacionados (também denominados folatos) que possuem atividade nutricional semelhante. O ácido fólico é sintetizado por microrganismos e por plantas e está amplamente distribuído na dieta. Vegetais, frutas, laticíneos e cereais são as fontes mais importantes. A ingestão média ocidental de 200 µg a 300 µg/dia está próxima das necessidades diárias. Ao contrário da vitamina B12, o corpo armazena o folato em uma quantidade pequena em relação às necessidades diárias (5 mg a 10 mg).⁽³⁾ Assim, as reservas corporais de folato se tornam depletadas mais rapidamente do que as reservas corporais de vitamina B12, sendo que a macrocitose decorrente da deficiência de ácido fólico pode se desenvolver em cerca de cinco meses após a adoção de uma dieta deficiente nesta vitamina.⁽¹⁵⁾

As coenzimas folato transferem unidades de carbono durante o metabolismo dos aminoácidos e a síntese das purinas e pirimidinas. O metilenotetrahydrofolato, um derivado do tetrahydrofolato, é necessário para a metilação dependente da timidilato sintase do deoxiuridilato para gerar o timidilato, uma etapa limitante na síntese de DNA. Na deficiência de folato, e indiretamente na deficiência da vitamina B12, esta reação é prejudicada acarretando um comprometimento da síntese de DNA e o desenvolvimento de uma hematopoiese megaloblástica. Além disso, a deficiência desta vitamina resulta no acúmulo do substrato homocisteína.⁽¹⁵⁾

O folato dos alimentos é susceptível à oxidação quando estes são aquecidos ou cozidos na água. Estima-se que 50% ou mais da vitamina podem ser perdidos durante o cozimento, especialmente quando o alimento é fervido. A maioria dos folatos é derivada do poliglutamato e devem ser convertidos a monoglutamato no intestino antes da absorção.⁽¹⁶⁾ A absorção do folato ocorre no jejuno, e o seu

principal local de armazenamento é o fígado. A distribuição do folato para outros tecidos depende principalmente da circulação entero-hepática, em que o folato é reabsorvido da bile para o plasma. A interrupção do fluxo da bile resulta em uma redução imediata dos níveis plasmáticos de folato. De modo semelhante, a ingestão de álcool interfere na liberação do folato do fígado para a bile, causando uma rápida diminuição nos níveis plasmáticos de folato.^(17,18)

A deficiência de ácido fólico geralmente é suspeitada devido à presença de anemia ou macrocitose inexplicada. Quando doenças neuropsiquiátricas são encontradas em pacientes com deficiência de ácido fólico, provavelmente eles devem apresentar também uma deficiência de vitamina B12 ou outras doenças.⁽¹⁾ Contudo, há algumas evidências de que, em algumas ocasiões, depressão, demência e outras síndromes neurológicas possam ser causadas pela deficiência de ácido fólico.⁽¹⁹⁾

As principais causas da deficiência de ácido fólico são ingestão inadequada na dieta; aumento das demandas da vitamina que ocorre durante a gravidez, na infância, e na presença de doenças associadas a uma rápida proliferação celular, como anemias hemolíticas, doenças neoplásicas e psoríase; má absorção decorrente de doenças jejunais ou de síndromes do intestino; competição biológica pelo folato da dieta devido à proliferação bacteriana; e induzida por drogas (anticonvulsivantes, anticoncepcionais orais, sulfasalazina, metotrexato, agentes antifólicos e agentes alquilantes).⁽¹⁾

Diagnóstico laboratorial das deficiências de vitamina B12 e de ácido fólico

Volume corpuscular médio

A macrocitose (volume corpuscular médio > 100 fL) com ou sem anemia é um achado comum em adultos. Pacientes com um volume corpuscular médio elevado podem apresentar uma doença megaloblástica, definida pela presença de alterações morfológicas na medula óssea que refletem um comprometimento na síntese de DNA, ou uma doença não megaloblástica. A presença de alterações megaloblásticas na medula óssea geralmente implica o diagnóstico de deficiência de vitamina B12 ou de ácido fólico.⁽²⁰⁾

Nos pacientes com deficiência de vitamina B12 ou de ácido fólico, o volume corpuscular médio tende a aumentar antes que os níveis de hemoglobina diminuam significativamente. Contudo, mesmo quando há evidência bioquímica de deficiência de vitamina, o volume corpuscular médio pode permanecer dentro da faixa de referência, principalmente se uma deficiência de ferro ou talassemia estiver presente concomitantemente.⁽²¹⁾

O volume corpuscular médio também carece de especificidade para o diagnóstico da deficiência de vitamina B12

e de ácido fólico. Algumas causas não megaloblásticas de macrocitose com ou sem anemia consistem no alcoolismo, doenças hepáticas, anemias hemolíticas, hipotireoidismo, síndromes mielodisplásicas e uso de agentes quimioterápicos.⁽²⁰⁾

Filme do sangue periférico

O exame do filme sanguíneo mostra alterações eritrocitárias úteis para o diagnóstico da anemia megaloblástica, como macro-ovalócitos, poiquilocitose com esquistócitos, dacriócitos, corpúsculos de Howell-Jolly, anel de Cabot, eritroblastos e até mesmo megaloblastos, conforme o grau de anemia. A hipersegmentação dos neutrófilos é o sinal mais precoce da disfunção da granulopoese, aparecendo mesmo antes da macrocitose e da anemia e persistindo por dias ou semanas após o início do tratamento. A presença de neutrófilos hipersegmentados é altamente sensível e específica para o diagnóstico da anemia megaloblástica.⁽¹⁾

Determinação da vitamina B12 plasmática

A determinação da vitamina B12 plasmática consiste na primeira linha de investigação para avaliar os níveis de vitamina B12. Dependendo da técnica utilizada para a determinação, o limite inferior dos níveis normais de vitamina B12 plasmática varia, sendo geralmente em torno de 148 pmol/L (200 pg/mL).⁽³⁾ A sensibilidade desta determinação é de 95% a 97%, de modo que um nível plasmático normal de vitamina B12 não exclui completamente a possibilidade de deficiência desta vitamina.⁽¹⁵⁾

Estudos com populações idosas demonstraram que ocorre um aumento dos metabólitos relacionados à vitamina B12, ácido metilmalônico plasmático e homocisteína total plasmática, em uma proporção significativa de indivíduos que possuem níveis normais de vitamina B12. Em um destes estudos, 35% dos indivíduos com níveis plasmáticos de vitamina B12 próximos do limite inferior (140-258 ng/L) e 24% dos indivíduos com níveis plasmáticos elevados de vitamina B12 (>258 ng/L) apresentaram níveis plasmáticos elevados de ácido metilmalônico e/ou de homocisteína total, sendo que 12% e 11% destes indivíduos, respectivamente, apresentaram níveis plasmáticos elevados apenas de ácido metilmalônico.⁽²²⁾

Níveis plasmáticos reduzidos de vitamina B12 não são específicos da deficiência de vitamina B12, podendo também ser encontrados na deficiência de ácido fólico, gravidez, infecção por HIV, mieloma, deficiência leve ou grave de transcobalamina I e em pacientes que recebem anticonvulsivantes. Quando os níveis plasmáticos de vitamina B12 são determinados, os níveis de folato também devem ser determinados para avaliar a possibilidade de que a deficiência primária possa ser de ácido fólico ao invés de vitamina B12.⁽¹⁵⁾ Nestes pacientes, os níveis plasmáticos de vita-

mina B12 retornam ao normal após a terapia com folato. Contudo, se após a administração de folato os níveis plasmáticos de vitamina B12 não retornarem ao normal, uma deficiência concomitante de vitamina B12 pode estar presente.⁽³⁾

Determinação do folato plasmático e do folato eritrocitário

Os níveis plasmáticos de folato diminuem após poucos dias de restrição dietética, embora os estoques teciduais possam estar normais. Dependendo da técnica utilizada para a determinação, o limite inferior dos níveis normais de folato no plasma varia, mas geralmente está em torno de 6,8 nmol/L (3,0 ng/mL). A concentração de folato nos eritrócitos é muito maior do que a concentração plasmática, de modo que um leve grau de hemólise pode causar um falso aumento nos níveis plasmáticos de folato.⁽³⁾

Os níveis de folato no plasma refletem principalmente a ingestão recente de folato e, conseqüentemente, são mais úteis na detecção da deficiência aguda de ácido fólico do que da deficiência crônica. Por outro lado, os níveis de folato nos eritrócitos correspondem à medida do estado de folato dos três meses precedentes.⁽¹⁵⁾ Isto ocorre porque depois que o folato atinge a maioria dos tecidos, incluindo os eritrócitos, este permanece nestas células até que estas sejam destruídas. Assim, o conteúdo de folato dos eritrócitos representa a média das concentrações de folato durante toda a vida de cada glóbulo vermelho, o que é muito menos dependente das flutuações dietéticas. Por isso, a determinação dos níveis de folato dos eritrócitos tem sido considerada um método mais eficaz para avaliar os estoques teciduais de folato. Além disso, tem sido observado que os níveis de folato dos eritrócitos se correlacionam mais fortemente com a presença de alterações megaloblásticas no esfregaço do sangue periférico e na medula óssea do que os níveis plasmáticos de folato, e a concentração de folato dos eritrócitos é quarenta a cem vezes maior do que a plasmática, o que a torna mais fácil de ser medida.⁽²³⁾

Contudo, limitações de sensibilidade e especificidade reduzem o valor da determinação do folato eritrocitário. Tem sido observado que o folato eritrocitário encontra-se baixo em quase dois terços dos pacientes com deficiência de vitamina B12, o que se deve provavelmente ao fato de que a vitamina B12 é necessária para a transferência normal do metiltetrahydrofolato do plasma para as células. Assim, este teste não possibilita o diagnóstico diferencial das anemias megaloblásticas.⁽¹⁾

Determinação do ácido metilmalônico plasmático e urinário, e da homocisteína total plasmática

A homocisteína é formada a partir da desmetilação da metionina através de reações que dependem da S-adenosilmetionina. O seu metabolismo posterior é dependente de várias vitaminas do complexo B. A homocisteína pode ser convertida novamente à metionina, através de uma reação que é catalisada na maioria dos tecidos por uma enzima metionina sintase ubíqua (metiltetrahydrofolato homocisteína metiltransferase), a qual requer metiltetrahydrofolato como cossustrato e metilcobalamina como cofator. Alternativamente, quando há um excesso de metionina, a homocisteína excedente é direcionada para a via de transulfuração, a qual converte a homocisteína em cisteína em uma reação catalisada por duas reações sequenciais dependentes da vitamina B6, sendo que a reação catalisada pela cistationina β -sintase consiste na etapa limitante. As deficiências de ácido fólico ou de vitamina B12 comprometem a remetilação da homocisteína, resultando em um aumento da homocisteína total plasmática.⁽²⁴⁾

O ácido metilmalônico é derivado da hidrólise do metilmalonil-CoA, que consiste em um intermediário metabólico da conversão do ácido propiônico a ácido succínico. Esta reação hidrolítica é catalisada pela enzima metilmalonil-CoA hidrolase. A conversão a succinil-CoA consiste em uma via metabólica alternativa da metilmalonil-CoA, catalisada pela enzima metilmalonil-CoA mutase, a qual requer adenosilcobalamina como cofator. Assim, a deficiência de vitamina B12 resulta em um aumento da concentração de ácido metilmalônico no plasma e na urina, o qual consiste em um marcador sensível e específico da deficiência desta vitamina.⁽²⁴⁾ O desenvolvimento de ensaios específicos para a determinação do ácido metilmalônico na urina, soro e plasma por meio de técnicas que possuem elevada sensibilidade e especificidade, como a cromatografia líquida ou gasosa acoplada à espectrometria de massa, tem tornado o ácido metilmalônico disponível para o diagnóstico da deficiência de vitamina B12 e para a sua diferenciação da deficiência de ácido fólico.⁽²⁵⁾

O ácido metilmalônico é um marcador bastante específico da deficiência de vitamina B12, já que, além desta condição, este se encontra elevado apenas na insuficiência renal, hipovolemia e defeitos metabólicos congênitos raros que afetam a atividade da metilmalonil-CoA mutase.⁽²³⁾ Por outro lado, os níveis plasmáticos de homocisteína total podem estar elevados na deficiência de vitamina B12 ou de ácido fólico, e também na deficiência de piridoxina, insuficiência renal, hipovolemia, hipotireoidismo e defeitos metabólicos congênitos.⁽²⁶⁾

Um nível elevado de ácido metilmalônico é mais específico para o diagnóstico da deficiência de vitamina B12 do que um nível elevado de homocisteína, contudo, a determinação do ácido metilmalônico é cara, não está amplamente disponível e é demorada. As deficiências tanto de vitamina B12 quanto de ácido fólico podem resultar em um aumento dos níveis de homocisteína. Assim, os níveis de ácido fólico também devem ser avaliados nos pacientes com

hiper-homocisteinemia isolada. Além disso, a deficiência de ácido fólico pode causar uma falsa redução nos níveis plasmáticos de vitamina B12.⁽²⁷⁾

A insuficiência renal causa uma elevação nos níveis plasmáticos de ambos os metabólitos, embora esta elevação seja geralmente modesta quando comparada com aquela causada pela deficiência de vitamina B12. A determinação dos níveis de ácido metilmalônico na urina corrigida pela excreção de creatinina pode ser uma alternativa em relação à determinação do ácido metilmalônico no plasma, principalmente nos pacientes com doença renal ou hipovolemia.⁽²⁸⁾ Os níveis plasmáticos de ácido metilmalônico e de homocisteína total também aumentam com a idade, embora isto possa ser causado por um aumento da prevalência de deficiência subclínica de vitamina nos pacientes idosos.⁽²⁹⁾

A determinação dos níveis plasmáticos de ácido metilmalônico e de homocisteína total tem se mostrado mais sensível no diagnóstico da deficiência de vitamina B12 do que a determinação apenas dos níveis plasmáticos desta vitamina.⁽¹²⁾ Além disso, estes metabólitos consistem em marcadores mais precoces da deficiência de vitamina B12 nos tecidos, estando elevados mesmo antes do surgimento de manifestações hematológicas e da redução dos níveis plasmáticos de vitamina B12.⁽³⁰⁾

Nos pacientes com deficiência de vitamina B12 ou de ácido fólico, os níveis dos metabólitos tendem a normalizar 7 a 14 dias após o início da terapia de reposição. A redução dos níveis plasmáticos de ácido metilmalônico e de homocisteína total relacionada ao tratamento tem sido considerada uma evidência de deficiência da vitamina.⁽³¹⁾ Além disso, tem sido relatado que nos pacientes com deficiência de ácido fólico que são inadequadamente tratados com vitamina B12, a homocisteína total plasmática permanece elevada, e que os níveis aumentados de ácido metilmalônico e de homocisteína total na deficiência de vitamina B12 retornam ao normal após o tratamento com vitamina B12, mas não com folato. Assim, a determinação dos níveis dos metabólitos antes e após o início do tratamento tem sido proposta como um meio de distinguir a deficiência de vitamina B12 da deficiência de ácido fólico nos casos em que os níveis plasmáticos de ambas as vitaminas estão reduzidos.⁽³⁾

Quando os níveis elevados de homocisteína total ou de ácido metilmalônico e a normalização destes metabólitos em resposta à terapia de reposição são utilizados como um critério para o diagnóstico da deficiência de vitamina B12, aproximadamente 50% destes pacientes apresentam níveis plasmáticos de vitamina B12 acima de 200 pg/mL. Esta observação sugere que a utilização dos níveis plasmáticos reduzidos de vitamina B12 como um único método de diagnóstico pode levar ao subdiagnóstico de metade dos pacientes com deficiência tecidual de vitamina B12.⁽³¹⁾

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As deficiências de vitamina B12 e de ácido fólico consistem nas principais causas de anemia megaloblástica, sendo que a deficiência de vitamina B12 ainda está associada com o desenvolvimento de distúrbios neurológicos. O diagnóstico diferencial entre estas deficiências é muito importante, já que a administração de suplementos de ácido fólico a pacientes com deficiência de vitamina B12 pode corrigir as alterações hematológicas megaloblásticas, mas sem impedir a progressão da doença neurológica.

As manifestações neurológicas da deficiência de vitamina B12 podem ocorrer mesmo na ausência de sintomas hematológicos, de modo que é muito importante o diagnóstico da doença subclínica, já que as alterações neurológicas podem frequentemente ser revertidas pelo diagnóstico precoce e tratamento adequado. O diagnóstico da deficiência de vitamina B12 geralmente é baseado na determinação dos níveis plasmáticos desta vitamina. Todavia, cerca de metade dos pacientes com doença subclínica apresentam níveis plasmáticos normais de vitamina B12.

A determinação do ácido metilmalônico plasmático e urinário e da homocisteína total plasmática tem se mostrado mais sensível para o diagnóstico da doença subclínica, já que estes metabólitos se encontram precocemente elevados na deficiência de vitamina B12. Além disso, a determinação destes metabólitos possibilita a realização do diagnóstico diferencial das anemias megaloblásticas, já que o ácido metilmalônico está elevado apenas na deficiência de vitamina B12, enquanto que a homocisteína está elevada na deficiência de ambas as vitaminas.

Assim, o emprego da determinação dos níveis do ácido metilmalônico e da homocisteína total parece contribuir para um aumento no diagnóstico precoce da deficiência de vitamina B12, principalmente nos pacientes com doença subclínica, além de facilitar a realização do diagnóstico diferencial entre as deficiências de vitamina B12 e de ácido fólico e o acompanhamento da resposta destes pacientes ao tratamento.

Para finalizar esta breve revisão, cumpre mencionar a abordagem de Carmel⁽³²⁾ sobre a deficiência subclínica de vitamina B12 encontrada em levantamentos epidemiológicos, cujo diagnóstico só é possível por meio de biomarcadores bioquímicos. Diante das dificuldades inerentes aos métodos utilizados para mensurar estes biomarcadores, seleção de *cutoffs*, interpretação de resultados e outras, recomenda-se uma leitura cuidadosa do trabalho citado acima buscando conhecer as limitações ainda existentes acerca deste tema.

Abstract

The main causes of megaloblastic anemia are the deficiencies of vitamin B12 and/or folic acid and it is very important the differential diagnosis between these deficiencies, since the administration of folic acid to

patients with vitamin B12 deficiency can correct the hematologic changes, without preventing the progression of neurological disease. The neurological manifestations of vitamin B12 deficiency can occur even when plasma levels of this vitamin are within the reference values, so that it is also very important the diagnosis of subclinical disease. The determination of parameters associated with vitamin B12, such as methylmalonic acid and homocysteine, have emerged as additional tools to improve the diagnosis of subclinical disease, and has also facilitated the realization of the differential diagnosis between vitamin B12 and folic acid. Thus, the determination of these parameters is a tool with great potential to improve the diagnosis of megaloblastic anemia in clinical laboratories. Considering the limitations related to the determination and interpretation of plasma levels of vitamin B12, the main objective of this review is to alert the professionals who deal with this issue on the importance of subclinical disease and the latest laboratory methods potentially applicable for improving the diagnosis of this condition. However, many gaps still exist regarding the proper approach and confirmation of suspected cases of vitamin B12 deficiency and/or folic acid, which undoubtedly will demand further study.

Keywords

Folic acid; Vitamin B12; Methylmalonic acid; Homocysteine; Megaloblastic anemia.

REFERÊNCIAS

- Malvezzi M, Zago MA. Deficiências de vitamina B12 e de folatos: anemias megaloblásticas. In: Zago MA, Falcão RP, Pasquini R. Hematologia fundamentos e prática. São Paulo: Atheneu, 2005. p. 195-210.
- Hvas AM, Nexø E. Diagnosis and treatment of vitamin B12 deficiency - an update. *Haematologica*. 2006; 91(11):1506-12.
- Snow CF. Laboratory diagnosis of vitamin B12 and folate deficiency: a guide for the primary care physician. *Arch Intern Med*. 1999;159(12):1289-98.
- Russell-Jones GJ, Alpers DH. Vitamin B12 transporters. *Pharm Biotechnol*. 1999;12:493-520.
- Vanderjagt DJ, Ujah IA, Ikeh EI, Bryant J, Pam V, Hilgart A, et al. Assessment of the vitamin B12 status of pregnant women in Nigeria using plasma holotranscobalamin. *ISRN Obstet Gynecol*. 2011;2011:365894.
- Weir DG, Scott JM. Brain function in the elderly: role of vitamin B12 and folate. *Br Med Bull*. 1999;55(3):669-82.
- Nexo E, Hansen M, Rasmussen K, Lindgren A, Gräsbeck R. How to diagnose cobalamin deficiency. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*. 1994; 219:61-76.
- Pepper MR, Black MM. B12 in fetal development. *Semin Cell Dev Biol*. 2011 Aug;22(6):619-23.
- Svenson J. Neurologic disease and vitamin B12 deficiency. *Am J Emerg Med*. 2007; 25(8):987.e3-4.
- Hin H, Clarke R, Sherliker P, Atoyebi W, Emmens K, Birks J, et al. Clinical relevance of low serum vitamin B12 concentrations in older people: the Banbury B12 study. *Age Ageing*. 2006;35(4):416-22.
- Ingenbleek Y, McCully KS. Vegetarianism produces subclinical malnutrition, hyperhomocysteinemia and atherogenesis. *Nutrition*. 2012 Feb;28(2):148-53.
- Hultberg B, Isaksson A, Nilsson K, Gustafson L. Markers for the functional availability of cobalamin/folate and their association with neuropsychiatric symptoms in the elderly. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2001;16(9):873-8.
- Allen LH, Rosenberg IH, Oakley GP, Omenn GS. Considering the case for vitamin B12 fortification of flour. *Food Nutr Bull*. 2010;31(1):36-46.
- Stover PJ. Vitamin B12 and older adults. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2010;13(1):24-7.
- Wickramasinghe SN. Diagnosis of megaloblastic anaemias. *Blood Rev*. 2006;20(6):299-318.
- McNulty H, Pentieva K. Folate bioavailability. *Proc Nutr Soc*. 2004; 63(4):529-36.
- Fernández O, Carreras O, Murillo ML. Intestinal absorption and enterohepatic circulation of folic acid: effect of ethanol. *Digestion*. 1998;59(2):130-3.
- Cylwik B, Chrostek L. Disturbances of folic acid and homocysteine metabolism in alcohol abuse. *Pol Merkuri Lekarski*. 2011;0(178):95-9.
- Stanger O, Fowler B, Piertz K, Huemer M, Haschke-Becher E, Semmler A, Lorenz S, Linnebank M. Homocysteine, folate and vitamin B12 in neuropsychiatric diseases: review and treatment recommendations. *Expert Rev Neurother*. 2006;9(9):1393-412.
- Kaferle J, Strzoda CE. Evaluation of macrocytosis. *Am Fam Physician*. 2009;79(3):203-8.
- Oosterhuis WP, Niessen RW, Bossuyt PM, Sanders GT, Sturk A. Diagnostic value of the mean corpuscular volume in the detection of vitamin B12 deficiency. *Scand J Clin Lab Invest*. 2000;60(1):9-18.
- Carmel R, Green R, Jacobsen DW, Rasmussen K, Florea M, Azen C. Serum cobalamin, homocysteine, and methylmalonic acid concentrations in a multiethnic elderly population: ethnic and sex differences in cobalamin and metabolite abnormalities. *Am J Clin Nutr*. 1999;70(5):904-10.
- Klee GG. Cobalamin and folate evaluation: measurement of methylmalonic acid and homocysteine vs vitamin B(12) and folate. *Clin Chem*. 2000;46(8 Pt 2):1277-83.
- Bjorke Monsen AL, Ueland PM. Homocysteine and methylmalonic acid in diagnosis and risk assessment from infancy to adolescence. *Am J Clin Nutr*. 2003;78(1):7-21.
- Lamers Y. Indicators and methods for folate, vitamin B12, and vitamin B6 status assessment in humans. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2011;14(5):445-54.
- Herrmann W, Obeid R. Homocysteine: a biomarker in neurodegenerative diseases. *Clin Chem Lab Med*. 2011;49(3):435-41.
- Oh R, Brown DL. Vitamin B12 deficiency. *Am Fam Physician*. 2003; 67(5):979-86.
- Celik T, Kardesoglu E, Iyisoy A, Ozcan O, Killic S, Yaman H. Urinary methylmalonic acid in patients with acute myocardial infarction. *Med Princ Pract*. 2009;18(3):217-22.
- Clarke R, Birks J, Ueland PM, Schneede J, Scott J, Molloy A, Evans JG. Low vitamin B12 status and risk of cognitive decline in older adults. *Am J Clin Nutr*. 2007;86(5):1384-91.
- Stabler SP, Allen RH. Vitamin B12 deficiency as a worldwide problem. *Annu Rev Nutr*. 2004;24:299-326.
- Pennypacker LC, Allen RH, Kelly JP, Mattheus LM, Grigsby J, Kaye K, Lindenbaum J, Stabler SP. High prevalence of cobalamin deficiency in elderly outpatients. *J Am Geriatr Soc*. 1992;40(12):1197-204.
- Carmel R. Biomarkers of cobalamin (vitamin B-12) status in the epidemiologic setting: a critical overview of context, applications, and performance characteristics of cobalamin, methylmalonic acid, and holotranscobalamin II. *Am J Clin Nutr*. 2011;94(1):348S-358S.

Correspondência

Caroline Pereira Domingueti

Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais
Av. Antônio Carlos, 6627 - Pampulha
31270-901 – Belo Horizonte, MG
Telefone: (31)3409-6902
caroldomingueti@yahoo.com.br