



**ESTUDO COMPARATIVO DAS FORMAS DE VITAMINA  
B<sup>12</sup> (CIANO E HIDROXICOBALAMINA) EM  
RELAÇÃO AOS NÍVEIS PLASMÁTICOS  
E AO RITMO DE EXCREÇÃO**

*VICTORIO MASPES, OSWALDO GNECCO, DURVAL MAZZEI  
NOGUEIRA, MICHEL JAMRA e AURORA LEAL*



**PUBLICAÇÃO IEA N.º**

Agosto — 1967

**168**

**INSTITUTO DE ENERGIA ATÔMICA**

Caixa Postal 11049 (Pinheiros)

CIDADE UNIVERSITÁRIA "ARMANDO DE SALLES OLIVEIRA"

SÃO PAULO — BRASIL

ESTUDO COMPARATIVO DAS FORMAS DE VITAMINA B<sub>12</sub>  
(CIANO E HIDROXICOBALAMINA) EM RELAÇÃO AOS  
NÍVEIS PLASMÁTICOS E AO RITMO DE EXCREÇÃO<sup>+</sup>

Victorio Maspes\*, Oswaldo Gnecco\*\*, Durval Mazzei Nogueira\*\*\*,  
Michel Jamra\*\*\*\* e Aurora Leal\*\*\*\*\*

Divisão de Radiobiologia  
Instituto de Energia Atômica  
São Paulo - Brasil

Publicação IEA Nº 168  
Agosto - 1967

---

+ Trabalho do Serviço de Hematologia (Prof. Michel Jamra) da Ia. C.M. (Prof. Antonio Barros de Ulhôa Cintra) da F.M. da U.S.P., do Instituto de Energia Atômica (Prof. Rômulo Ribeiro Pieroni) e do Departamento de Bioquímica da F.D.B. da U.S.P. (Prof. Durval N. Nogueira), publicado em "REV. HOSP. CLIN. FAC. MED. SÃO PAULO" - 22.7.67.

\* Médico-Assistente do Serviço de Hematologia.

\*\* Médico-Assistente - Divisão de Radiobiologia - I.E.A. - Lab. Radioisótopos.

\*\*\* Professor Associado, regente da Cadeira de Bioquímica da F.F.B. da U.S.P..

\*\*\*\* Médico-Chefe do Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da F.M.-U.S.P..

\*\*\*\*\* Instrutor da Cátedra de Bioquímica da F.F.B. da U.S.P..

Comissão Nacional de Energia Nuclear

Presidente: Prof. Uriel da Costa Ribeiro

Universidade de São Paulo

Reitor: Prof.Dr. Luis Antonio da Gama e Silva

Instituto de Energia Atômica

Diretor: Prof. Rômulo Ribeiro Pieroni

Conselho Técnico-Científico do IEA

Prof.Dr. José Moura Gonçalves	}	pela USP
Prof.Dr. José Augusto Martins		
Prof.Dr. Rui Ribeiro Franco	}	pela CNEN.
Prof.Dr. Theodoreto H.I. de Arruda Souto		

Divisões Didático-Científicas

Divisão de Física Nuclear -

Chefe: Prof.Dr. Marcello D.S. Santos

Divisão de Radioquímica -

Chefe: Prof.Dr. Fausto Walter de Lima

Divisão de Radiobiologia -

Chefe: Prof.Dr. Rômulo Ribeiro Pieroni

Divisão de Metalurgia Nuclear -

Chefe: Prof.Dr. Tharcísio D.S. Santos

Divisão de Engenharia Química -

Chefe: Lic. Alcídio Abrão

Divisão de Engenharia Nuclear -

Chefe: Eng<sup>o</sup> Pedro Bento de Camargo

Divisão de Operação e Manutenção de Reatores -

Chefe: Eng<sup>o</sup> Azor Camargo Penteado Filho

Divisão de Física de Reatores -

Chefe: Prof.Dr. Paulo Saraiva de Toledo

Divisão de Ensino e Formação -

Chefe: Prof. Rui Ribeiro Franco

## ESTUDO COMPARATIVO DAS FORMAS DE VITAMINA B<sub>12</sub> (CIANO E HIDROXICOBALAMINA) EM RELAÇÃO AOS NÍVEIS PLASMÁTICOS E AO RITMO DE EXCREÇÃO

VICTORIO MASPES †, OSVALDO GNECCO \*\*, DURVAL MAZZEI NOGUEIRA \*\*\*,  
MICHEL JAMRA \*\*\*\* e AURORA LEAL \*\*\*\*\*

*Os autores estudaram 4 indivíduos hematologicamente normais e 5 pacientes portadores de anemia megaloblástica, submetendo-os a injeções de cianocobalamina e hidroxicobalamina. Verificaram que os níveis plasmáticos de hidroxicobalamina eram mais baixos que os da cianocobalamina, em indivíduos normais injetados com 1000 microgramas dessas vitaminas. Nas mesmas experiências, notaram que a cianocobalamina se elimina mais rapidamente que a hidroxicobalamina. Quando esta prova foi feita em pacientes com anemia megaloblástica verificaram que os níveis plasmáticos de cianocobalamina eram mais baixos, e a eliminação urinária desta era mais lenta.*

GLASS<sup>1,2</sup> demonstrou que a hidroxicobalamina mantinha níveis plasmáticos mais elevados e se eliminava mais lentamente na urina que a cianocobalamina, quando injetada no homem. Esse autor trabalhou injetando doses de 500 a 1000 microgramas destas substâncias, dosando-as no plasma e na urina dos indivíduos injetados. A determinação quantitativa da vitamina foi feita microbiologicamente em um grupo de pacientes e, em outro, com o uso de traçadores radioativos.

No entanto, sabendo-se que a via de eliminação da vitamina B<sub>12</sub> é quase exclusivamente a via renal, e que esse material sofre depuração glomerular simples (quando não ligado a nenhuma proteína) achamos estranho que, nestas condições, o material que mantinha níveis plasmáticos mais elevados, fosse eliminado mais lentamente que aquele que tinha níveis plasmáticos mais baixos (Slapar, M. e Hume, D. M. 3). Dessa forma, resolvemos repetir as experiências de Glass, com o objetivo de esclarecer os fatos acima citados.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados nas experiências indivíduos vítimas de acidentes de trânsito, até então em estado de saúde e internados

**Trabalho do Serviço de Hematologia** (Prof. Michel Jamra) da Primeira Clínica Médica (Prof. Antônio Barros Uihôa Cintra) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, do Instituto de Energia Atômica (Prof. Romulo Pieroni) e do Departamento de Bioquímica da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo (Prof. Durval Mazzei Nogueira).

- \* Médico-assistente do Serviço de Hematologia.
- \*\* Médico-assistente do Laboratório de Radionúcleos da Primeira Clínica Médica, Instituto de Energia Atômica.
- \*\*\* Professor-associado, regente da Cátedra de Bioquímica da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo.
- \*\*\*\* Médico-chefe do Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
- \*\*\*\*\* Instrutor da Cátedra de Bioquímica da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo.

na Clínica Ortopédica. Os pacientes não eram portadores de nenhuma moléstia orgânica, exceto um que sofria de acromegalia. Além dessas foram feitas experiências com pacientes portadores de anemia megaloblástica internados no Serviço de Hematologia da 1.ª Clínica Médica (Hosp. Clin. Fac. Med. Univ. S. Paulo).

O paciente acromegálico, recebeu uma injeção de cianocobalamina de 1000 microgramas traçada com 1 microcurie de  $\text{Co}^{60}$  por via intramuscular. Em seguida foi determinada a atividade radioativa do plasma de 2 horas após a injeção, e nos plasmas colhidos do primeiro ao quarto dia. Ao mesmo tempo foi determinada a atividade radioativa total da urina do primeiro ao quarto dia. Duas semanas após essa experiência foi feita outra idêntica, utilizando-se hidroxicobalamina no lugar da cianocobalamina, a qual por sua vez foi traçada com  $\text{Co}^{57}$ .

Essas mesmas provas foram realizadas em 3 pacientes da Clínica Ortopédica em tratamento de traumatismo dos membros inferiores. Todos os pacientes eram de sexo masculino. Desses pacientes, 2 receberam a injeção intramuscular de 1000 microgramas de vitamina  $\text{B}_{12}$  "fria", 24 horas antes do início da experiência. Tal qual o indivíduo descrito anteriormente (acromegálico), estes foram injetados com cianocobalamina, e 25 dias após o término dessa experiência injetados com hidroxicobalamina. Os pacientes que receberam a injeção de 1000 microgramas de vitamina  $\text{B}_{12}$  24 horas antes da experiência, receberam cianocobalamina antes da prova com a cianocobalamina e hidroxicobalamina antes da prova com esta substância.

Os pacientes portadores de anemia megaloblástica não foram injetados com as duas vitaminas, porquanto a injeção tanto da cianocobalamina como da hidroxicobalamina, modificariam completamente o quadro clínico, e hematológico, e o paciente que tinha carência de vitamina  $\text{B}_{12}$ , passaria a não ser mais carente. Assim, dois pacientes de anemia megaloblástica receberam 1000 microgramas de cianocobalamina e os outros três, 1000 microgramas de hidroxicobalamina, ambas traçadas com  $\text{Co}^{57}$ . Estes pacientes encontram-se atualmente em observação para serem submetidos a

nova experiência quando voltarem a exibir carência; nessas condições receberiam injeções do produto à ação do qual ainda não tinham sido submetidos.

## TÉCNICAS

A determinação da atividade radioativa foi feita em alíquotas de plasma ou urina, colocadas em tubos plásticos especiais e contadas em cintilador de poço.

As determinações microbiológicas da vitamina  $\text{B}_{12}$  foram feitas utilizando-se o desenvolvimento padronizado do *Lactobacillus leishmanii*. (A.T.C.C. 7830).

As dosagens microbiológicas da vitamina  $\text{B}_{12}$  foram feitas no Departamento de Bioquímica da Fac. Farmácia e Bioquímica (Prof. Durval Mazzei Nogueira).

## RESULTADOS

1. No paciente acromegálico, conforme foi dito anteriormente, foi feita a experiência piloto. Foi, portanto, nesse mesmo paciente feita a prova com a cianocobalamina e duas semanas após com a hidroxicobalamina. Este paciente não foi previamente preparado com injeção de 1000 microgramas de vitamina  $\text{B}_{12}$  fria, 24 horas antes da prova.

Os resultados obtidos no plasma e urina desse paciente podem ser observados na Tabela I.

Conforme poderemos observar, os níveis plasmáticos neste caso foram maiores com a cianocobalamina que com a hidroxicobalamina. Essas determinações, no entanto, dada a baixa atividade do material radioativo são passíveis de erro, não podendo ser levados em consideração os números absolutos. Porém, fora de dúvida, a cianocobalamina era encontrada em maior quantidade que a hidroxicobalamina, em todos os materiais. Os resultados obtidos com a urina, entretanto, foram muito seguros, e os erros advindos dos métodos de determinação da atividade radioativa eram desprezíveis. Os resultados são expressos em percentagem da quantidade injetada no paciente. Verificamos que no primeiro dia foi eliminada, por via urinária, 69,9% da cianocobalamina, enquanto apenas 49,2%

TABELA I

Nível plasmático e excreção urinária de Vitamina B<sub>12</sub> em paciente acromegálico e hematologicamente normal

	Cianocobalamina 1000 µg — I.M.		Hidroxicobalamina 1000 µg — I.M.	
	Plasma µg/100 ml	Urina % do total injetado	Plasma µg/100 ml	Urina % do total injetado
1.º dia .....	3.25	69.9	3.04	49.2
2.º dia .....	2.22	7.8	1.08	6.0
3.º dia .....	2.28	7.0	0.34	1.0
4.º dia .....	2.07	4.5	0.34	0.3
Total .....		89.2		56.5

Níveis plasmáticos e eliminação urinária da cianocobalamina e hidroxicobalamina, em seguida à injeção de 1000 microgramas dessas substâncias traçadas com Co<sup>57</sup>.

de hidroxicobalamina era eliminado em período idêntico. Nos dias subsequentes à experiência, sempre foi maior o teor de cianocobalamina que o de hidroxicobalamina encontrados na urina. Nos 4 dias da prova, foram eliminados 89,2% de cianocobalamina e 56,5% de hidroxicobalamina. Parecia, portanto, fora de dúvida que a cianocobalamina se elimina mais rapidamente que a hidroxicobalamina. Parecia igualmente válido que os níveis plasmáticos da cianocobalamina nos primeiros dias, eram maiores que os da hidroxicobalamina.

A experiência seguinte, feita em paciente da Clínica Ortopédica, obedeceu às mesmas normas seguidas com o paciente des-

crita anteriormente. Dos três pacientes em que a prova foi feita, 2 foram submetidos a uma dose de saturação de 1000 microgramas, 24 horas antes da prova.

Os resultados obtidos nesses dois pacientes estão nas tabelas II e III.

Analisando os dados da tabela II indicamos que os erros desses resultados são amplos devido à baixa atividade do material, porém os resultados têm significado em quase todas as amostras, desde que a atividade da cianocobalamina mostrou-se maior que a da hidroxicobalamina.

Quando analisamos os resultados da tabela III observamos que a cianocobalamina era quase totalmente eliminada no primei-

TABELA II

Níveis da vitamina B<sub>12</sub> no plasma em indivíduos normais

Paciente	A.L.N.		O.J.F.	
	Cianocobalamina µg/100 ml	Hidroxicobalamina µg/100 ml	Cianocobalamina µg/100 ml	Hidroxicobalamina µg/100 ml
1.º dia .....	5,2	2,6	2,6	2,8
2.º dia .....	4,3	0,8	1,3	1,1
3.º dia .....	1,3	0,4	0,9	0,9
4.º dia .....			2,5	0,8

Níveis plasmáticos de cianocobalamina e hidroxicobalamina em 2 indivíduos normais, após a injeção de 1000 microgramas traçadas com 2 microcuries de Co<sup>57</sup>; 24 horas antes da prova foram injetados 1000 microgramas de vitamina «fria» (não radioativa).

TABELA III

Quantidade de  $B_{12}$  excretada na urina de indivíduos normais. Percentagem (%) do material injetado

Paciente	A.L.N.		O.J.F.	
	Cianocobalamina	Hidroxicobalamina	Cianocobalamina	Hidroxicobalamina
1.º dia .....	72.0	57.2	97.0	77.8
2.º dia .....	1.6	8.0	2.0	12.7
3.º dia .....	0.8	3.4	0.6	4.8
4.º dia .....	0.9	2.5	0.0	2.4
	0.4	0.0	0.0	1.6
Total .....	75.7	71.1	99.6	99.3

Quantidade de cianocobalamina e hidroxycobalamina excretada pela urina de 2 indivíduos normais. Quantidade injetada: 1000 microgramas traçada com 2 microcuries de  $Co^{57}$ ; 24 horas antes foram injetados 1000 microgramas de vitamina  $B_{12}$  - «fria».

ro dia e, em seguida, a eliminação caía, enquanto a hidroxycobalamina era bastante eliminada já nas primeiras 24 horas, se fazendo mais significativa, entretanto nos dias subsequentes. Notamos que após 5 dias, as quantidades eliminadas nestes indivíduos eram iguais no curso dos 5 dias. Este dado diferia bastante do primeiro paciente estudado. Fizemos, então, a experiência no terceiro paciente, cujos dados estão na tabela IV, sem que ele tivesse previamente seus depósitos saturados pela vitamina  $B_{12}$ .

Verificamos com bastante nitidez, que os níveis plasmáticos da cianocobalamina

continuavam sendo mais elevados que o de hidroxycobalamina. Porém, a eliminação urinária, mostrou acentuada excreção da cianocobalamina no primeiro dia, seguida de menor perda diária, porém ainda bem evidentes durante os seguintes 4 dias, enquanto a hidroxycobalamina que teve uma boa eliminação no primeiro dia, decain acentuadamente nos 4 dias seguintes. Após esse período, tínhamos uma eliminação quase total de cianocobalamina, enquanto a hidroxycobalamina havia sido eliminada apenas em 71,3%.

Dessa forma pensamos ter demonstrado que:

TABELA IV

Nível plasmático e excreção urinária da vitamina  $B_{12}$  em indivíduo normal

	Cianocobalamina		Hidroxicobalamina	
	Plasma $\mu\text{g}/100\text{ ml}$	Urina % do Injetado	Plasma $\mu\text{g}/100\text{ ml}$	Urina % do Injetado
1.º dia ....	3.3	61.0	1.7	57.0
2.º dia .....	1.5	13.0	1.1	9.3
3.º dia .....	1.7	16.0	0.8	3.4
4.º dia .....	1.7	7.0	0.6	1.6
Total .....		97.0		71.3

Níveis plasmáticos e eliminação urinária da cianocobalamina e hidroxycobalamina, após a injeção de 1000 microgramas dessas substâncias, traçados com 2 microcuries de  $Co^{57}$ .

1. Os níveis plasmáticos da cianocobalamina eram maiores que os da hidroxicobalamina.
2. A eliminação urinária da cianocobalamina era mais rápida que a da hidroxicobalamina.
3. Quando essas vitaminas eram injetadas em indivíduos cujos depósitos tinham sido antecipadamente saturados de vitamina B<sub>12</sub>, após 5 dias as duas vitaminas já tinham sido completamente eliminadas.
4. Quando os depósitos não haviam sido previamente saturados, a hidroxicobalamina era a única que ainda não tinha sido completamente eliminada.

Os resultados obtidos em pacientes com anemia megaloblástica mostraram que estes são completamente diferentes dos acima relatados.

Cinco pacientes portadores de anemia megaloblástica internados no Serviço de Hematologia, foram submetidos a experiências com cianocobalamina e hidroxicobalamina. Nestes pacientes não foram feitas injeções das duas vitaminas em cada um. Este procedimento foi baseado no fato de que se nós injetássemos um paciente com uma das vitaminas, caso fosse carente, éle a armazenaria, dando resultados modificados por este depósito prévio. Como esse armazenamento se faz por longo prazo, resolvemos somente repetir a experiência com a outra vitamina (que ainda não havia sido estudada nesse paciente) após se haver restabelecido o quadro primitivo, tanto clínico como hematológico, isto é, após recaída do estado de anemia megaloblástica. Acontece que este quadro de recaída leva muito tempo (provavelmente mais de um ano) para se reproduzir novamente. Este o motivo pelo qual não foi realizada a injeção das vitaminas no mesmo paciente.

O primeiro paciente estudado: A.E.T., 29 anos, masculino, branco e brasileiro, era portador de anemia perniciosa de Addison-Biermer. Esse paciente tinha severa anemia com medula megaloblástica. Apresentava todos os sinais clínicos dos portadores dessa moléstia, exceção feita aos

sinais neurológicos. A dosagem da vitamina B<sub>12</sub> no soro foi de 87 micro--microgramas por ml e a dos folatos, 95 milimicrogramas por 100 ml.

Assim ficou bem caracterizada a baixa taxa dos nutrientes responsáveis pela maturação da linhagem megaloblástica. Foram injetados nesse paciente, por via intramuscular, 1000 microgramas de cianocobalamina, traçados com 2 microcuries de Co<sup>57</sup>. Foi feita colheita da urina eliminada nas 24 horas que se seguiram à injeção, e nessa urina foi dosada a vitamina B<sub>12</sub> tanto pelo método microbiológico como pela determinação da atividade radioativa. Houve uma grande discrepância entre essas dosagens. A determinação da atividade radioativa mostrou que 31% do material injetado encontrava-se nessa urina (310 microgramas) enquanto a dosagem microbiológica mostrou somente 8 microgramas. Supusemos que provavelmente a vitamina havia sido destruída por bactérias das vias urinárias, motivo pelo qual não pôde ser determinada pelo método microbiológico. Porém, a atividade radioativa, que é somente a detecção da presença de ions de Co<sup>57</sup>, e que se encontraria na urina mesmo que a vitamina B<sub>12</sub> tivesse sofrido ação bacteriana e sido decomposta, foi revelada em taxa de 31%. Esse dado, no entanto, mostra que os outros 69% da vitamina injetada, permaneciam no organismo do paciente após essas primeiras 24 horas.

Em consequência da injeção da vitamina B<sub>12</sub>, o paciente teve uma resposta reticulocitária, quando os reticulócitos subiram de 2 para 10,7%. A subida deu-se lentamente e o máximo foi atingido no 5.º dia.

Foi determinada a taxa de vitamina B<sub>12</sub> no plasma por métodos microbiológicos e com a medida do isótopo radioativo 2 e meia, 6 e 24 horas após a injeção da vitamina B<sub>12</sub>. A tabela V, mostra os resultados comparativos. Verificamos que as dosagens microbiológicas, foram muito menores que as obtidas com a determinação da atividade radioativa. Em tôdas as determinações microbiológicas, foram verificadas taxas que correspondiam a 1/5 da determinação com a atividade radioativa.

Neste caso, poderemos supor que também aqui houve decomposição da vitamina

TABELA V

Paciente A. E. T. — Anemia perniciosa.  
Determinação da vitamina B<sub>12</sub> no plasma

	Pelo traçador pp. g/ml	Microbiológica pp. g/ml
2 ½ horas .....	15.030	3.101
6 horas .....	7.173	1.643
24 horas .....	1.984	517

Níveis plasmáticos da cianocobalamina, após injeção de 1000 microgramas dessas substâncias traçadas com 2 microcuries de Co<sup>57</sup>. Estudo comparativo entre a dosagem microbiológica e a dosagem com o traçador.

B<sub>12</sub>, motivo pelo qual não pôde ser dosada microbiologicamente.

Outro paciente internado ao mesmo tempo, também com o diagnóstico de anemia perniciosa, J.C.S., 46 anos, masculino, cor parda, brasileiro, portador de severa anemia com medula óssea megaloblástica, com os sinais clínicos da doença, com exceção das lesões neurológicas, também foi estudado. Tinha taxa de vitamina B<sub>12</sub> de 125 micromicrogramas por ml e de 290 milimicrogramas de folatos por 100 ml de soro.

Neste paciente foram injetados 1000 microgramas de hidroxibalamina traçada com 2 microcuries de Co<sup>57</sup>. A recuperação urinária do produto injetado mostrou eliminação de 64% nas primeiras 24 horas, quando a determinação foi feita medindo a atividade radioativa e de 4,2% quando a determinação feita era microbiológica. Neste caso, também, podemos raciocinar da mesma forma que no caso anterior. Também as determinações plasmáticas (tabela VI) mostraram discrepância entre as duas determinações.

Verificamos, no entanto, que a taxa plasmática era muito maior que a anterior, e que a diminuição dessa taxa foi feita muito mais lentamente que no caso anterior. Desta vez não se observou queda idêntica nas dosagens microbiológicas. Aceitamos a hipótese de que a vitamina não foi dosada microbiologicamente por estar decomposta, enquanto a determinação da radioatividade era feita sobre o íon

TABELA VI

Paciente J. C. S. — Anemia perniciosa.  
Determinação da vitamina B<sub>12</sub> no plasma

	Pelo traçador pp. g/ml	Microbiológica pp. g/ml
2 ½ horas .....	62.241	11.596
6 horas .....	35.220	12.470
24 horas .....	14.155	13.400

Níveis plasmáticos da hidroxibalamina, após injeção de 1000 microgramas dessa substância traçada com 2 microcuries de Co<sup>57</sup>. Estudo comparativo entre as dosagens microbiológicas e com o traçador.

Co<sup>57</sup>, mesmo que a vitamina tivesse sido desnaturada. De qualquer forma, a recuperação urinária, por um ou outro processo, foi maior neste caso com a hidroxibalamina, do que com a cianocobalamina. Há, entretanto, neste caso, maior concordância entre a taxa plasmática mais elevada e a eliminação urinária maior. A crise reticulocitária, foi mais lenta que no caso anterior, atingindo 10% no 8.º dia após a injeção.

Um terceiro paciente, M.A.T., 37 anos, feminino, branca, brasileira, internada no Serviço de Hematologia, era portadora de severa anemia com medula óssea megaloblástica. Este caso, ainda apresentava carência múltipla, sem sinais clínicos de anemia perniciosa. As taxas de vitamina B<sub>12</sub> (216 micromicrogramas por ml) e de folatos (630 milimicrogramas por 100 ml) eram normais. Neste paciente, como no caso anterior, foram injetadas 1000 microgramas de hidroxibalamina marcada com 2 microcuries de Co<sup>57</sup>. Neste caso houve eliminação de 62% da vitamina nas primeiras 24 horas após a injeção, e a crise reticulocitária foi muito pequena.

As determinações da atividade dessa vitamina no soro mostraram novamente discrepância entre as determinações microbiológicas e as da atividade radioativa (tabela VII).

Podemos observar que os níveis plasmáticos são maiores que no caso de injeção de cianocobalamina.

Um outro caso de anemia megaloblástica

TABELA VII

Paciente M. A. T. — Anemia megaloblástica.  
Determinação da vitamina B<sub>12</sub> no plasma

	Pelo traçador pp. g/ml	Microbio- lógica g/ml
2 ½ horas . . . . .	19.220	61.090
6 horas . . . . .	35.830	31.908
24 horas . . . . .	11.620	21.665

Níveis plasmáticos da hidroxicoalamina, após injeção de 1000 microgramas dessa substância traçada com 2 microcuries de Co<sup>57</sup>. Estudo comparativo entre as dosagens microbiológicas e pelo traçador.

ca, M.T.F., 76 anos, branco, masculino, espanhol, com os caracteres clínicos de anemia perniciosa, foi submetido ao estudo, injetando-se hidroxicoalamina nas mesmas quantidades que anteriormente. Este paciente apresentava vitamina B<sub>12</sub> no plasma em taxa menor que 10 micromicrogramas por ml. A eliminação urinária da vitamina nas primeiras 24 horas foi de 53% do total do material injetado. Este paciente teve uma intensa crise reticulocitária, que atingiu um máximo de 29% no 5.º dia após a injeção.

Uma outra paciente, A.M.S., 60 anos, feminino, branca, brasileira, com anemia megaloblástica, era portadora de um adenocarcinoma gástrico, que era o responsável pelo seu estado clínico, inclusive pela sua megaloblastose. O estado dessa paciente era precaríssimo. A prova foi feita com cianocobalamina, que foi eliminada nas primeiras 24 horas em teor de 70,6% do total do material injetado. Houve uma crise reticulocitária pouco intensa.

Com o material estudado, alcançamos uma série de informações, que deverão ser confirmadas ou modificadas em estudo posterior.

1. A hidroxicoalamina em indivíduos normais se elimina mais lentamente que a cianocobalamina.
2. Essa eliminação é feita a partir da vitamina que não foi armazenada em seus órgãos de depósito normal.

3. Os níveis plasmáticos da hidroxicoalamina são menores que os da cianocobalamina, quando essas substâncias são injetadas em grande quantidade.
4. A eliminação da vitamina B<sub>12</sub>, em pacientes previamente saturados com 1000 microgramas, se faz de forma total, no caso de qualquer das duas vitaminas num período de 5 dias, embora a cianocobalamina seja completamente eliminada nas primeiras 24 horas.
5. Em pacientes que não foram saturados previamente com a vitamina, a eliminação da hidroxicoalamina após 5 dias de observação não só foi completa, como também foi feita mais lentamente, e com níveis plasmáticos menores do que os da cianocobalamina. Este fato, pode ser explicado pelo fato de que a vitamina B<sub>12</sub> se elimina por simples filtração glomerular<sup>4</sup> e em quantidade tanto maior quanto maior for o nível plasmático.
6. Em indivíduos carentes de B<sub>12</sub>, com anemia megaloblástica, a cianocobalamina se elimina mais lentamente ou no mesmo teor que a hidroxicoalamina, levando aos mesmos resultados terapêuticos.
7. Os dados obtidos com as determinações microbiológicas e da atividade radioativa, tanto no plasma como na urina, nos indicam que há uma desnaturação da vitamina B<sub>12</sub>, motivo pelo qual ela é detida em níveis mais altos nas determinações de atividade radioativa do que nas dosagens microbiológicas. Este fato já havia sido anteriormente demonstrado<sup>3</sup>.

#### SUMMARY

*Comparative study of cyanocobalamin and hydroxicobalamin in relationship to the plasma levels and excretory rates.*

A comparative study between cyanocobalamin and hydroxicobalamin was made using 4 individuals hematologically normal and 5 patients with megaloblastic anemia. The injection of 1000 micrograms of the two forms of vitamin B<sub>12</sub> were followed by lower plasmatic levels when of hydro-

xicobalamin as compared to cyanocobalamin.

Cyanocobalamin is excreted more rapidly than hydroxicobalamin.

Studying megaloblastic anemia patient; the plasmatic levels were lower with cyanocobalamin and the urinary excretion of this form was slower than of the hydroxicobalamin.

#### AGRADECIMENTOS

Agradecimentos são devidos à "Merck, Sharp & Dohme" pelo auxílio prestado.

#### BIBLIOGRAFIA

- GLASS, G. B. J.; LEE, D. H. & HARDY, W. W. — Hydroxocobalamin; II. Absorption from the site of injection and uptake the liver and calf muscle in man. *Blood* 18: 522-526, 1961.
- GLASS, G. B. J.; SKEGGS, H. R.; LEE, D. H.; JONES, E. L. & HARY, W. W. — Hydroxocobalamin; I. Blood levels and urinary excretion of vitamin B<sub>12</sub> in man after a single parenteral dose of aqueous Hydroxocobalamin, aqueous cyanocobalamin and cyanocobalamin zinc-tannate complex. *Blood* 18:511-521, 1961.
- PIERONI, R. R.; ABRÃO, A.; MASPES, V. & JAMRA, M. — Recuperacion urinária de la vitamina B<sub>12</sub> (C<sup>14</sup>) administrada por via parenteral. *Sangre (Barcelona)* 5: 209-214, 1960.
- SLAPAK, M. & HUME, D. M. — A new method of estimating glomerular-filtration rate. *Lancet* 1:1095-1097, 1965.
- MASPES, V.; GNECCO, O.; NOGUEIRA, D. M.; JAMRA, M. & LEAL, A. — Estudo comparativo das formas de vitamina B<sub>12</sub> (ciano e hidroxocobalamina) em relação aos níveis plasmáticos e ao ritmo de excreção. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. S. Paulo* 22:7-14, 1967.