

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES

NIVELES SERICOS DE ACIDO FOLICO Y VITAMINA B₁₂
EN DIVERSOS PADECIMIENTOS HEMATOLOGICOS

DIVISION DE ENSEÑANZA

HOSPITAL DE ENFERMEDADES DE LA NUTRICION

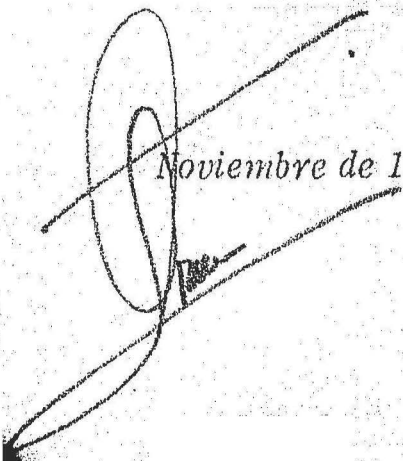
INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION

ESPECIALIDAD EN MEDICINA INTERNA

JORGE LUIS SOSA MUÑOZ

México, D. F.

Noviembre de 1975





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

*Trabajo de investigación clínica
que para obtener el grado de
Especialidad en Medicina Interna
presenta
el Médico Cirujano
Jorge Luis Sosa Muñoz*

A MIS PADRES

*que con su cariño y apoyo siempre
me han alentado*

A MIS HERMANOS

AGRADECIMIENTO

Al concluir otra etapa de mi preparación académica, quiero expresar mi más sincero agradecimiento a aquellas personas que despertaron mi inquietud para realizar una especialización; al Instituto Nacional de la Nutrición que me brindó la oportunidad de llevarla a cabo y a todas las personas que con sus enseñanzas y consejos de interesados me han ayudado a contemplar el amplio campo de la medicina actual, saber reconocer mi ignorancia y por ende la necesidad de laborar conjuntamente para ser productivo y mejorar el nivel de servicio a nuestros semejantes.

Especial deuda de gratitud tengo para con el Dr. Aymoré Vaz Pinto, bajo cuya guía llevé a cabo el presente trabajo y logré empezar a conocer la metodología de la investigación clínica.

Al Dr. Juan Labardini Méndez, quiero agradecerle sus valiosos consejos críticos que me ayudaron a estructurar en forma lógica los comentarios aquí vertidos.

Finalmente, no puedo dejar de agradecer al personal no médico de la Institución que con su labor tácita facilitó el desempeño de mis propias actividades y de mis compañeros a quienes me unen fuertes lazos de amistad por todas las satisfacciones y cuitas que convivimos durante nuestro entrenamiento.

INTRODUCCION

Desde la observación de Daft y Sebrell (1), que el ácido fólico (A. F.) es esencial para la maduración de los leucocitos y la introducción de métodos microbiológicos para determinar los niveles séricos e intracelulares de ácido fólico y vitamina B₁₂ (2-3), han sido realizados numerosos trabajos en pacientes con padecimientos hematológicos malignos y no malignos, para tratar de esclarecer su relación con los niveles de las vitaminas antes señaladas (4-5).

Swendsein (6) en 1951, estudió el contenido de ácido fólico de los leucocitos, encontrando en los sujetos normales un valor promedio de 80 ng/ml de leucocitos empaquetados, valores mayores en casos de leucemias linfocítica y granulocítica crónicas y aun aumentos mas significativos en los casos de leucemia aguda mieloblástica. En los pacientes con leucemia aguda, después de la radioterapia, la concentración de ácido fólico disminuyó a cifras normales. El aumento de A. F. pareció tener correlación con el grado de inmadurez de las células, esto fué apoyado posteriormente por Hoffbrand (7).

Rao (8-9) encontró niveles de actividad de A. F. del suero significativamente menores que los normales, en pacientes con hemopatías malignas y otras neoplasias. También se ha tratado de relacionar los niveles séricos de esta vitamina con la respuesta al tra-

tamiento, señalando que los pacientes con niveles normales responden en forma satisfactoria, en tanto que los que cursan con niveles bajos no responden adecuadamente (10).

Joubert (11) estudió 40 pacientes con neoplasias no hematológicas, encontrando niveles medios normales de folato sérico y urinario que no se modificaron después de la radioterapia.

Beard (12-13) en 1954, reportó en pacientes con leucemia granulocítica crónica, una cifra media de los niveles séricos de vitamina B₁₂ quince veces mayor que en los sujetos normales y aumento notable de la capacidad de fijación de esta vitamina por el suero. Estas aseveraciones han sido apoyadas por múltiples estudios (14-17). Sin embargo, la correlación señalada por Beard entre la cifra de leucocitos y los niveles séricos de B₁₂ ha sido controvertida (18-19) al igual que los intentos de correlación entre los niveles de vitamina B₁₂ y la estirpe de las células leucémicas.

Se ha mencionado que el diferente patrón de capacidad de fijación de B₁₂ puede ser útil en el diagnóstico diferencial de los procesos mieloproliferativos (20). La proteína responsable del aumento de la capacidad de fijación se ha identificado como una alfa proteína parcialmente derivada de los granulocitos, denominada transcobalamina III (TC III) (21-22). Posteriormente, se demostró que la TC III es una proteína transportadora normal que se encuentra aumentada en casos de leucocitosis no relacionada con hemopatías malignas;

por lo tanto, la determinación de la capacidad de fijación de B₁₂ no parece ser un dato útil para el diagnóstico de padecimientos mieloproliferativos malignos (23-25).

Anle estas discrepancias en la literatura, se decidió estudiar los niveles séricos de A. F. y B₁₂ en sujetos normales y pacientes con diversos padecimientos hematológicos con el objeto de tener nuestros propios valores controles en el Instituto Nacional de la Nutrición y adquirir experiencia en relación al valor diagnóstico y pronóstico o las implicaciones terapéuticas que las determinaciones de estas vitaminas pueden tener.

MATERIAL Y METODO

El material estuvo constituido por un grupo control de 21 sujetos, empleados de la Institución, aparentemente sanos y un grupo problema de 102 pacientes, distribuidos de acuerdo a su padecimiento en la forma señalada en el cuadro I.

La determinación de los niveles séricos de ácido fólico y vitamina B₁₂, se realizó empleando los métodos microbiológicos descritos por Waters (26) y Matheus (27), respectivamente. Estos métodos, descritos en detalle mas adelante, se basan en que el *Lactobacillus Casei* (ATCC 7469) es un bacilo fólico dependiente y por lo tanto su multiplicación es proporcional a la concentración de folato del medio en que se encuentra; en forma similar, el *Lactobacillus Leichmannii* (ATCC 7830), es vitamina B₁₂-dependiente y su crecimiento está en relación directa a la concentración de la vitamina B₁₂ en el medio.

El diagnóstico se basó en la historia clínica, determinación de Hb por el método de la cianometahemoglobina (28), hematocrito y cuenta de leucocitos (29), observación del frotis de sangre periférica y de acuerdo a la orientación proporcionada por los datos anteriores, se realizaron: cuenta de reticulocitos (30), determinación del hierro sérico y capacidad total de fijación por el método de Beale

TABLA I

NIVELES DE A. FOLICO Y VIT. B₁₂ EN DIVERSOS
PADECIMIENTOS HEMATOLOGICOS

PACIENTES ESTUDIADOS

	<i>No. de casos</i>
<i>Anemia hipocrómica</i>	17
<i>Anemia hemolítica</i>	17
<i>A. aplástica y dishemopoética</i>	22
<i>Leucemia aguda</i>	14
<i>Linfomas</i>	13
<i>Leucemia granulocítica crónica</i>	<u>19</u>
<i>Total</i>	102

modificado por Loría y Monge (31), punción médula ósea y biopsia de hueso o ganglio, cariotipo (32), fragilidad osmótica de los eritrocitos (33), inducción de drepanocitos (34), cuantificación de Hb libre en plasma (35), hemoglobina F (36) y haptoglobinas (37); electroforesis de hemoglobina (38) y pruebas de Ham (39), sucrosa (40) e inulina (41).

Dosificación de folatos en el suero (26)

- Principio: Se basa en el crecimiento del *L. casei* (ATCC 7469) en función de la concentración de folatos en el suero. El bacilo es ácido fólico dependiente, por lo que su multiplicación es proporcional a la concentración de folatos en el medio en que se encuentra.
- Recolección de las muestras: En ayunas se extrajeron 10 ml de sangre total sin anticoagulante. El suero se separó por centrifugación y se conservó a -20°C hasta el día de la dosificación.
- Preparación del extracto de suero: El suero diluido 1/10 con tampón de fosfato 0, 1 N, pH 6.1, conteniendo 100 mg% de ácido ascórbico, se desproteinizó por ebullición durante 8 minutos en baño-maría; se centrifugó y el sobrenadante se diluyó 1/4 en agua destilada (dilución final 1/40).
- Dosificación: Se mezclaron 2 ml del extracto del suero con 2 ml del medio de ensayo B. B. L. PGA BROTH, la mezcla se llevó al autoclave a 15 lb durante 5 minutos. Se agregó a cada tubo una gota del inóculo (suspensión de *L. casei* lavado) y se incubó a 37°C durante 22 horas.

- Lectura de resultados: Después de incubar, se leyó la turbidez del cultivo en espectrofotómetro a 660 nm. Los resultados obtenidos se compararon con los de una curva patrón, hecha con concentraciones conocidas de ácido fólico.

Dosificación de la vitamina B₁₂ en el suero (27)

- Principio: Se basó en el crecimiento del *L. leichmannii* ATCC 7830 en función de la concentración de vitamina B₁₂ en el suero. El bacilo es vitamina B₁₂ dependiente, y, por lo tanto, su crecimiento es proporcional a la concentración de dicha vitamina en el suero.
- Recolección de muestras: Igual que el descrito para el ácido fólico.
- Preparación del extracto del suero: A 1.25 ml de suero se agregaron 1.25 ml de tampón de acetato pH 4.6 con KCN (18 mg/l). Con agua bidestilada se aforó a 7.5 ml y se desproteinizó por ebullición durante 30 minutos en baño-maría. A 4.5 ml del sobrenadante, que se separó por centrifugación, se adicionaron 0.4 ml de HONa 0.1 N y se aforó a un volumen de 7.5 ml con agua bidestilada. Dilución final del extracto: 1/10.
- Dosificación: A 2 ml de extracto se agregaron 3 ml de agua y 5 ml de medio de ensayo (DIFCO), se esterilizó el autoclave a 15 lb de presión durante 5 minutos. Se agregó una gota del inóculo (suspensión de *L. leichmannii* lavado) y se incubó a 37°C durante 22 horas.

- Lectura de resultados: Después de incubar, se leyó la turbidez del cultivo en un espectrofotómetro a 700 nm. Los resultados obtenidos se compararon con los de una curva patrón, con concentraciones conocidas de vitamina B12.

TABLA II

NIVELES DE A.F. Y VIT. B₁₂ EN DIVERSOS

PADECIMIENTOS HEMATOLOGICOS

GRUPO CONTROL

No. caso	Sexo/edad	Hb	Ht	A. Fólico	Vitamina B ₁₂
1	M/24	18.3	53.9	3.3	270
2	F/17	16.0	48.0	8.2	700
3	M/29	16.8	48.7	14.0	500
4	F/24	14.0	43.0	13.6	375
5	M/25	17.5	52.0	6.2	230
6	F/40	14.0	43.0	8.3	397
7	F/48	14.9	45.3	14.0	395
8	M/30	17.3	51.1	16.2	440
9	F/47	16.5	47.3	12.2	345
10	M/24	17.9	51.5	14.2	440
11	M/23	18.1	53.3	4.3	650
12	M/23	16.0	48.8	8.4	610
13	M/24	17.0	51.0	4.3	285
14	M/35	17.7	52.1	7.5	415
15	M/25	18.8	59.3	12.4	275
16	F/28	16.3	49.2	5.3	230
17	F/27	16.6	50.1	8.2	222
18	M/26	15.2	55.5	7.1	225
19	F/30	14.0	43.8	10.4	490
20	M/35	17.5	51.5	16.5	390
21	F/19	13.0	42.0	10.2	890

NIVELES DE A. FOLICO Y VIT. B₁₂ EN DIVERSOS
PADECIMIENTOS HEMATOLOGICOS

GRUPO CONTROL

<i>Acido Fólico</i>	<i>ng/ml</i>	<i>Vit. B₁₂</i> <i>(pg/ml)</i>
\bar{X}	9.7	418
D. E.	4.0	176
No.	21	21

RESULTADOS

Los valores obtenidos en el grupo control se aprecian en los cuadros II y III. El valor promedio de A.F. del suero fue de 9.7 ng/ml con una desviación estándar (D.E.) de 4.0; el valor promedio de vitamina B₁₂ fue de 418 pg/ml con una D.E. de 176.

Anemia hipocrómica. - Este grupo, estuvo constituido por 17 pacientes con anemia por deficiencia de hierro secundaria a sangrado ginecológico, de tubo digestivo o uncinariasis (Cuadro IV). El promedio de A.F. del suero fue de 9.5 ng/ml con una desviación estándar de 5.7 y variación de 2.2 a 20.0 ng/ml. De 17 casos, seis (35,2%) presentaron niveles subnormales de A.F.

Aunque el promedio de este grupo no difiere del grupo normal, encontramos un mayor número de casos con niveles bajos de A.F. Este hallazgo está de acuerdo con lo reportado por otros autores (42-44), quienes informan una mayor incidencia de deficiencia de A.F. en estos enfermos que en la población general.

El promedio de la vitamina B₁₂ sérica fue de 402 pg/ml con una D.E. de 175 y variación de 142 a 725 pg/ml. El valor promedio no difiere significativamente del grupo control y en ningún caso se observó deficiencia de esta vitamina.

Los valores promedio de hierro sérico y hemoglobina

NIVELES DE ACIDO FOLICO Y VITAMINA B₁₂ EN DIVERSOS PADECIMIENTOS HEMATOLOGICOSANEMIA HIPOCROMICA

No. caso	Sexo/edad	Hb	Tes	A. Fólico	Vit. B ₁₂	Diagnóstico
1	M/62	5.0	28	11.2	305	Uncinariasis
2	F/38	3.2	40	20.0	610	"
3	F/15	4.4	24	7.7	640	"
4	M/16	5.8	=	13.4	265	"
5	F/17	5.7	29	2.2	394	"
6	F/13	=	=	2.4	575	"
7	F/26	6.9	30	12.6	250	Melrorragia
8	F/32	8.7	25	7.1	=	"
9	F/39	12.1	35	4.0	180	"
10	F/43	11.4	53	13.6	360	"
11	F/45	8.1	28	16.0	225	"
12	F/32	9.4	25	4.0	725	"
13	F/30	=	=	3.6	455	"
14	F/69	10.8	36	9.2	445	Várices esof.
15	M/51	3.8	11	17.6	560	Úlcera duodenal
16	M/74	7.0	29	13.7	240	" "
17	M/1	5.8	=	3.4	212	Def. aliment.
Valor Promedio				9.5 ng/ml	402 pg/ml	
D. E.				5.7	175	
Variación				2.2 - 20.0	142 - 725	

A. F. y B₁₂: vs. Grupo control. No diferencia

fueron 30 ± 9 microgramos/100 ml de suero y 7.5 ± 2.9 gm/100 ml de sangre total, respectivamente.

Anemia hemolítica. - En este grupo de 17 pacientes, todos ellos con hemolisis crónica (Tabla V), el valor promedio de A. F. del suero fue de $6 \text{ ng/ml} \pm 3.7$ y al compararlo con el grupo control, el análisis por la "t" de Student mostró una diferencia significativa ($p < 0.01$). En 6 casos (35.2%) encontramos deficiencia de folatos.

El promedio de vitamina B₁₂ fue de 542.6 ± 355.7 pg/ml, con una variación de 135 a 1110 pg/ml. Ningún caso presentó deficiencia de esta vitamina y el valor promedio no difiere significativamente del grupo control ($p > 0.05$).

Anemia aplásica y dishemopoyética. - Este grupo consta de 11 pacientes con anemia aplásica y 11 con anemia dishemopoyética (45), todos ellos tratados con andrógenos (Tabla VI).

El valor promedio de A. F. fue de $16.1 \text{ ng/ml} \pm 8.6$. La diferencia de promedios con relación al grupo control es significativa ($p < 0.01$). Únicamente 2 casos mostraron deficiencia de folatos.

El valor promedio de vitamina B₁₂ fue de $653.7 \text{ pg/} + 365.4$ y es significativamente mayor que el del grupo control ($p < 0.01$).

De 5 enfermos que tenían niveles de B₁₂ mayores de 1000 pg/ml, 4 fallecieron y el caso 22 no ha presentado remisión completa después de 10 meses de tratamiento. El caso No. 13 que tenía un valor de 935 pg/ml, ha evolucionado en forma insatisfactoria, requi-

TABLA V

NIVELES DE ACIDO FOLICO Y VITAMINA B₁₂ EN DIVERSOS PADECIMIENTOS HEMATOLOGICOSANEMIA HEMOLITICA

Caso	Hb	Retic.	A. F.	Vit. B ₁₂	Diagnóstico
1	10.5	3.4	16.0	385	A. H. A. I.
2	12.5	4.0	13.2	430	A. H. A. I.
3	10.8	10.0	3.8	300	A. H. A. I.
4	11.2	3.0	3.8	1065	A. H. A. I.
5	7.6	5.6	8.0	1110	H. P. N.
6	5.1	4.4	6.7	135	H. P. N.
7	7.0	--	3.0	325	H. P. N.
8	9.0	21.0	5.6	170	H. P. N.
9	16.8	1.8	5.4	--	Esf. Her.
10	9.6	8.6	4.8	1050	Esf. Her.
11	12.8	2.6	8.6	465	Tal. Int.
12	13.9	6.0	3.6	--	Tal. Int.
13	6.1	4.8	2.8	505	Tal. Int.
14	10.5	18.5	6.2	184	S. Tal.
15	8.6	25.0	4.3	240	S. Tal.
16	7.2	33.0	4.2	835	S. Tal.
17	6.1	24.0	2.3	490	S. Tal.

Valor Promedio

6.0 ng/ml

542.6 pg/ml

D. E.

3.7

355.7

Variación

2.3 - 16

135 - 1110

A. F. vs. grupo control $p < 0.01$ B₁₂ No diferencia

TABLA VI

NIVELES DE ACIDO FOLICO Y VITAMINA B12 EN DIVERSOS PADECIMIENTOS HEMATOLOGICOS

ANEMIAS APLASTICAS Y DISHEMOPOYETICAS

No. caso	Hb	Leucos	Neut. Tol.	A. Fólico	Vit. B12	Observaciones
1	9.6	3800	1216	25.5	1300	Falleció
2	4.1	2100	1218	3.4	1050	Falleció
3	7.5	2200	1118	16.5	425	Buena evol.
4	12.2	4700	2350	15.6	275	" "
5	4.0	1400	28	19.5	460	Falleció
6	3.7	1800	216	16.8	1175	Falleció
7	4.0	1250	250	32.0	625	Falleció
8	6.8	3130	438	14.8	220	
9	4.2	1250		8.2	790	
10	12.8	3500	1470	8.9	320	Remisión
11	8.9	1600	224	2.2	740	Falleció
12	5.6	3500	1015	15.6	302	Buena evol.
13	9.5	3000	1170	11.6	935	Evol. insatisfactoria
14	8.2	2600	1229	32.0	515	
15	9.0	3800	1406	6.6	300	No responde al Rx
16	12.0	3500	1470	18.2	410	Buena evol.
17	12.9	5900	3540	32.0	650	Remisión
18	7.1	2500	750	18.6	1500	Falleció
19	8.1	3000	960	15.2	475	Buena evol.
20	7.7	2000	381	6.9	465	En recaída
21	10.2	2200	814	21.2	410	Buena evol.
22	7.5	2350	828	12.5	1040	Evol. insatisfactoria
Valor Promedio				16.1 ng/ml	653.7 pg/ml	
D. E.				8.6	365.4	

A. F. vs. Grupo control $p < 0.01$
 B12 vs. Grupo control $p < 0.01$

Los once primeros casos corresponden a anemia aplásica y los restantes a dishemopoyética.

riendo a lo largo de 2 años numerosas transfusiones y dosis altas de andrógenos.

Leucemia aguda. - Los pacientes se encontraban en diferente estado de su padecimiento y sus características se presentan en la tabla VII.

Se realizó determinación de A. F. en 12, encontrando un valor promedio de 5.2 ng/ml y D. E. de 5.0, con niveles subnormales en 8 (66.6%). No encontramos correlación entre los niveles de Hb y A. F.

El valor promedio de vitamina B₁₂ fue de 830 pg/ml \pm 651. No encontramos ningún caso de deficiencia de esta vitamina ni correlación de sus niveles con la cifra de leucocitos.

Linfomas. - El promedio de A. F. del suero en estos 13 enfermos (Tabla VIII) fue de 4 ng/ml \pm 1.8, ya que ocho (61.5%) presentaban deficiencia.

El promedio de vitamina B₁₂ fue de 737 \pm 467 pg/ml y es significativamente mayor que el del grupo control ($p < 0.05$).

Leucemia granulocítica crónica. - En este grupo de 19 pacientes (Tabla IX), se realizaron 16 determinaciones de A. F., encontrando un valor promedio de 6 ng/ml \pm 3.8, significativamente menor que el del grupo control ($p < 0.01$). La incidencia de deficiencia fue de 31.2% y hubo correlación entre los niveles de hemoglobina y A. F. con una $r = 0.48$ (Gráfica 1).

NIVELES DE ACIDO FOLICO Y VITAMINA B12 EN DIVERSOS PADECIMIENTOS HEMATOLOGICOS

LEUCEMIAS AGUDAS

No. caso	Diagnost.	Hb	Leucos	A. F.	Vit. B12	Trat. y observaciones
1	L. A. L.	8.6	3150	2.8	810	Ind. remisión PDN y VCR
2	L. A. L.	12.9	87000	4.5	535	Fase inicial Rx Nada
3	L. A. L.	10.2	1900	12.0	1120	Inducción PDN y VCR
4	L. A. L.	12.9	6400	18.7	285	Mant. : 6-MP, MTX, CFM En remisión
5	L. A. L.	14.8	3600	3.4	340	Mant. : CFM y MTX En remisión
6	L. A. L.	13.8	5450	2.0	785	Mant. : 6-MP, MTX, CFM En remisión
7	L. A. L.	5.7	406000	3.3	940	Inducción PDN y VCR
8	L. A. L.	9.2	2250	3.7	695	Inducción PDN y VCR
9	L. A. L.	10.3	13200	2.0	775	Rx Nada
10	L. A. L.	6.2	133200	4.8	522	Fase inicial Rx Nada
11	L. A. L.	3.6	38200	3.2	1360	Nada. Falleció AVC
12	L. A. M.	6.2	11600	=	387	Fase inicial Rx Nada
13	L. A. M. M.	9.9	3600	2.0	2800	Inducción VCR, MTX, 6-MP, PDN
14	L. A. Indif.	15.3	2900	=	265	Mant. : 6-MP, CFM En remisión
Valor Promedio				5.2 ng/ml	830 pg/ml	
D. E.				5.0	651	
Variación				2.0 - 18.7	265 - 2800	

A. F. vs. Grupo control. No valorable

B12 vs. Grupo control $p < 0.05$

TABLA VIII.

NIVELES DE ACIDO FOLICO Y VITAMINA B₁₂ EN DIVERSOS PADECIMIENTOS HEMATOLOGICOSL I N F O M A S

Caso	Estirpe	Estadio	A. Fólico	Vit. B ₁₂
1	Linfocítico	III B	5.2	218
2	Linfocítico	IV B	6.9	1500
3	Linfocítico	IV B	3.8	==
4	Linfocítico	IV B	2.0	775
5	Histiocítico	IV B	4.9	==
6	Histiocítico	IV B	2.6	445
7	Histiocítico	IV B	2.0	925
8	Histiocítico	IV B	5.5	1600
9	Histiocítico	III B	3.8	294
10	Histiocítico	IV B	2.0	820
11	Hodgkin	III B	2.0	785
12	Hodgkin	III B	7.2	340
13	Indiferenciado	IV B	4.0	410
		Valor Promedio	4 ng/ml	737 pg/ml
		D. E.	1.8	467
		Variación	2 - 7.2	218 - 1600

A. F. vs. Grupo control. No diferencia
 B₁₂ vs. Grupo control $p < 0.05$

TABLA IX

NIVELES DE A. FOLICO Y VIT. B₁₂ EN DIVERSOS

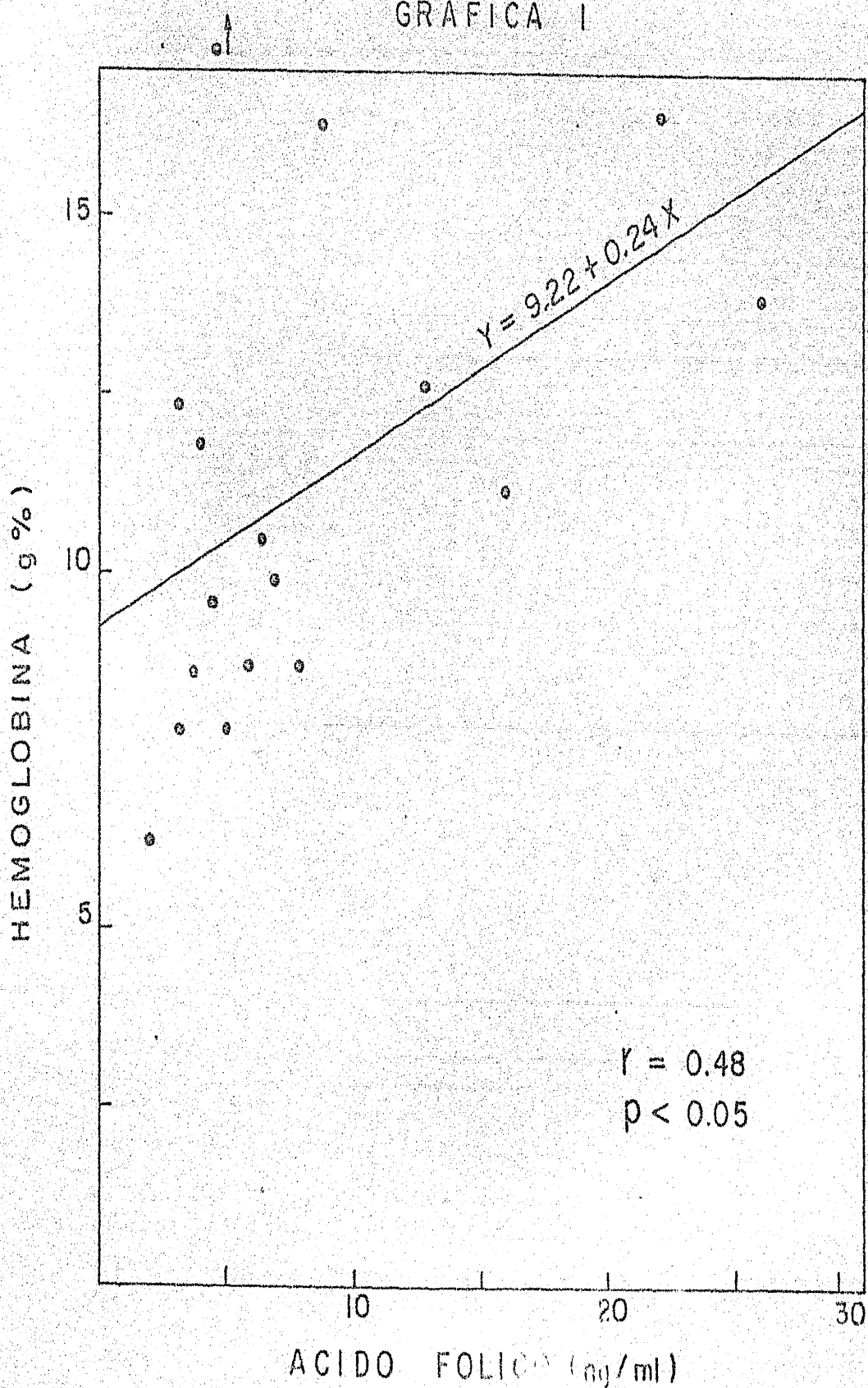
PADECIMIENTOS HEMATOLOGICOS

LEUCEMIA GRANULOCITICA CRONICA

Caso	Hb	Leucos	A. Fóllico	Vit. B ₁₂
1	13.9	18,850	=	1,980
2	7.8	122,500	=	5,860
3	9.0	184,000	=	3,000
4	15.2	12,600	=	1,555
5	8.3	105,000	=	2,500
6	8.7	7,900	5.8	3,000
7	9.6	322,000	4.4	6,000
		19,200	=	3,000
8	9.9	100,000	6.8	10,000
9	16.3	11,400	8.7	1,100
10	8.7	74,000	7.8	11,880
11	7.8	126,000	3.3	3,040
12	11.8	112,000	4.0	3,500
13	12.4	240,000	3.2	6,000
14	11.2	345,000	16.0	8,400
15	18.5	25,600	4.8	2,500
	7.8	11,800	5.0	1,680
16	8.6	325,000	3.8	3,500
17	6.2	346,000	2.0	3,600
	7.3	18,000	23.8	2,150
18	10.5	4,300	6.4	1,200
19	12.6	120,800	12.8	3,000
			Valor Promedio	6.05 ng/ml 4,065 pg/ml
			D.E.	3.8 2,917
			Variación	2.0 - 23.8 1,100 - 11,880

A.F. vs. grupo control $p < 0.01$ B₁₂ vs. grupo control $p < 0.01$

GRAFICA I

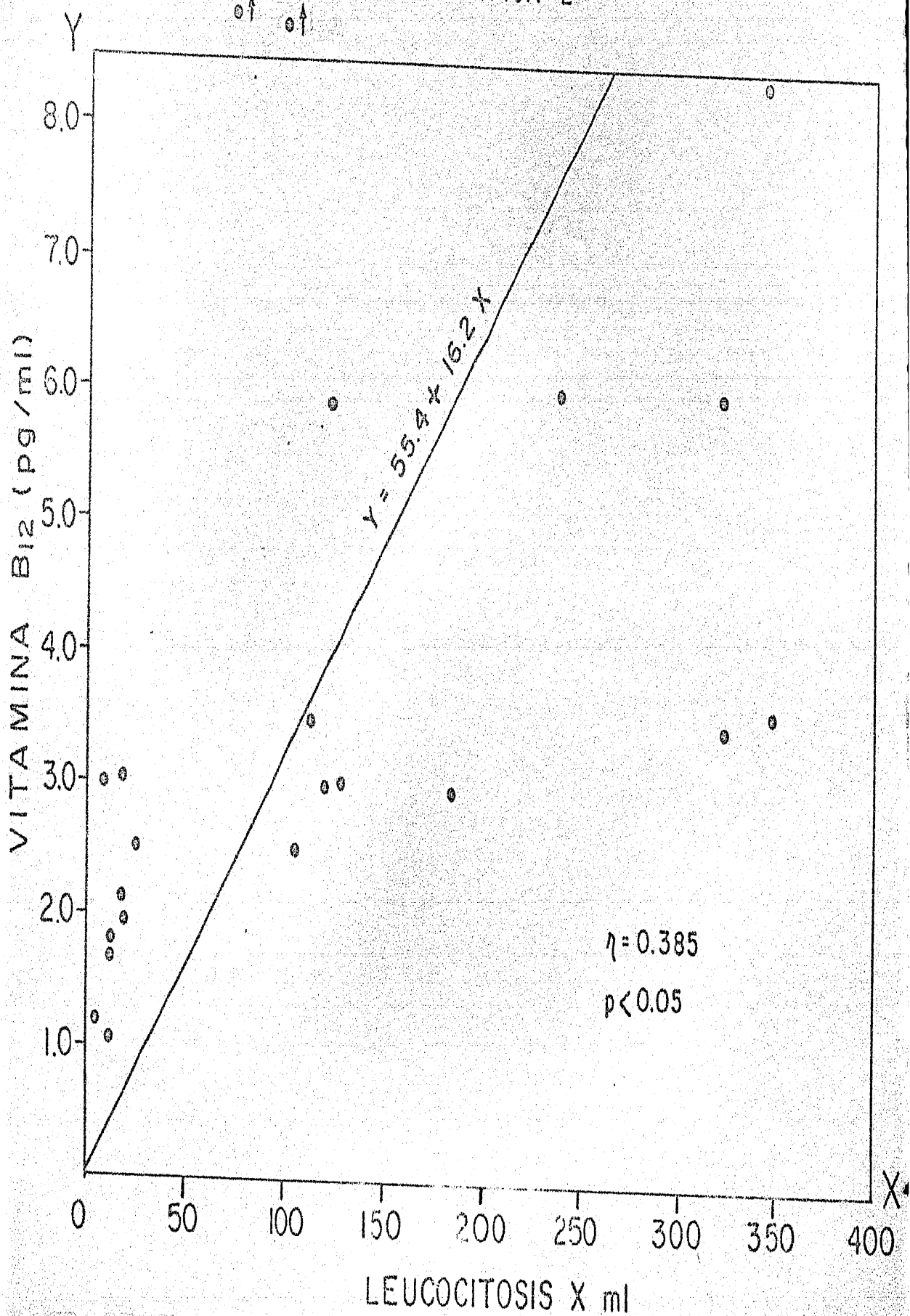


En cuanto a la vitamina B₁₂, el valor promedio fue de 4065 pg/ml \pm 2917; catorce de estos enfermos presentaron niveles de 3000 pg/ml o mas, siendo el mayor valor encontrado 11,880 pg/ml.

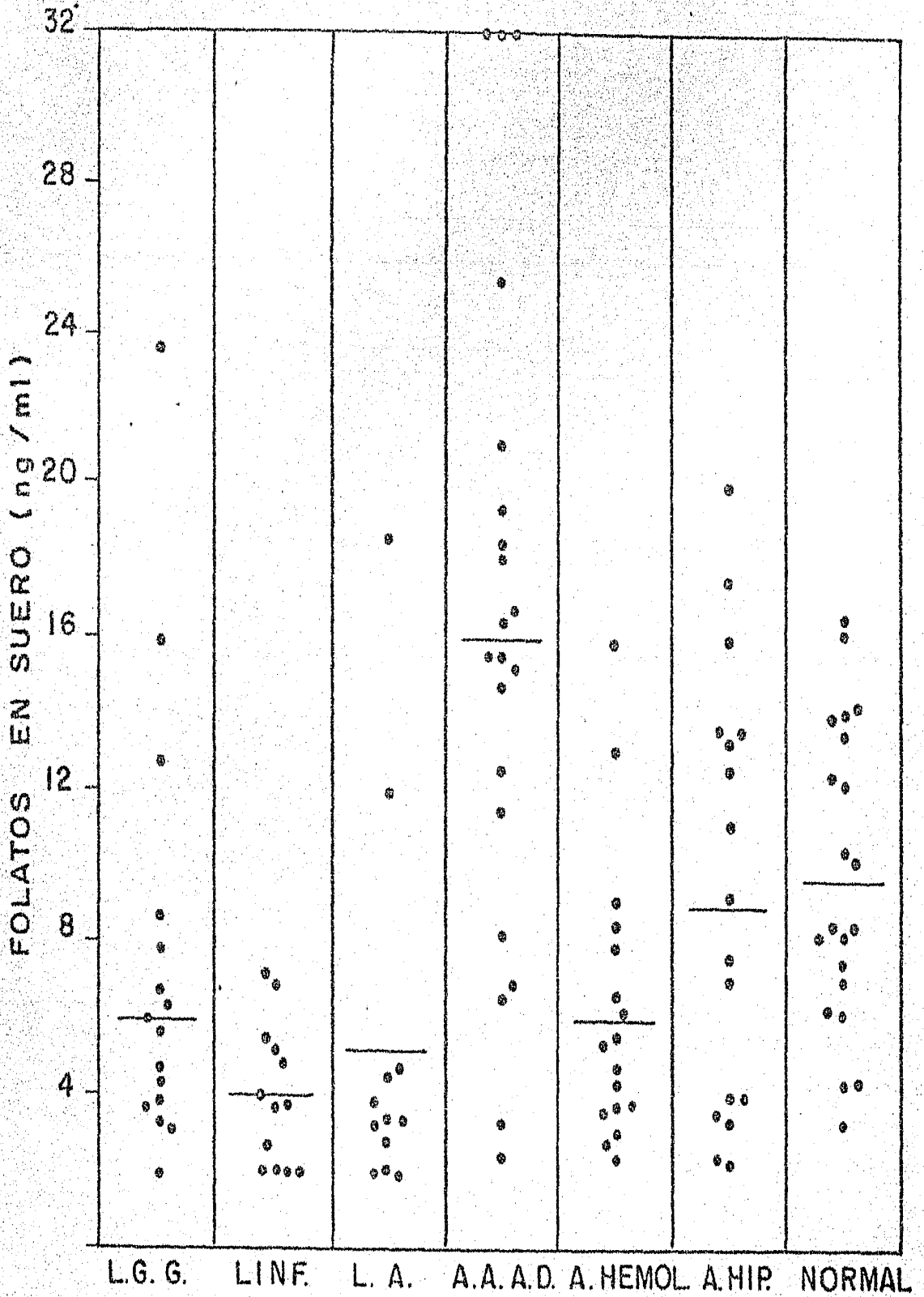
Los niveles de B₁₂ sérica mostraron correlación (Gráfica 2), con el número de leucocitos en sangre periférica ($r = 0.385$; $p < 0.05$). No se encontró correlación entre los niveles de B₁₂ y el número de granulocitos jóvenes en sangre periférica o en médula ósea.

En las gráficas 3 y 4 se encuentran condensados los resultados de las determinaciones de ácido fólico y vitamina B₁₂ respectivamente en el suero de los pacientes y los valores promedio de cada grupo de padecimientos.

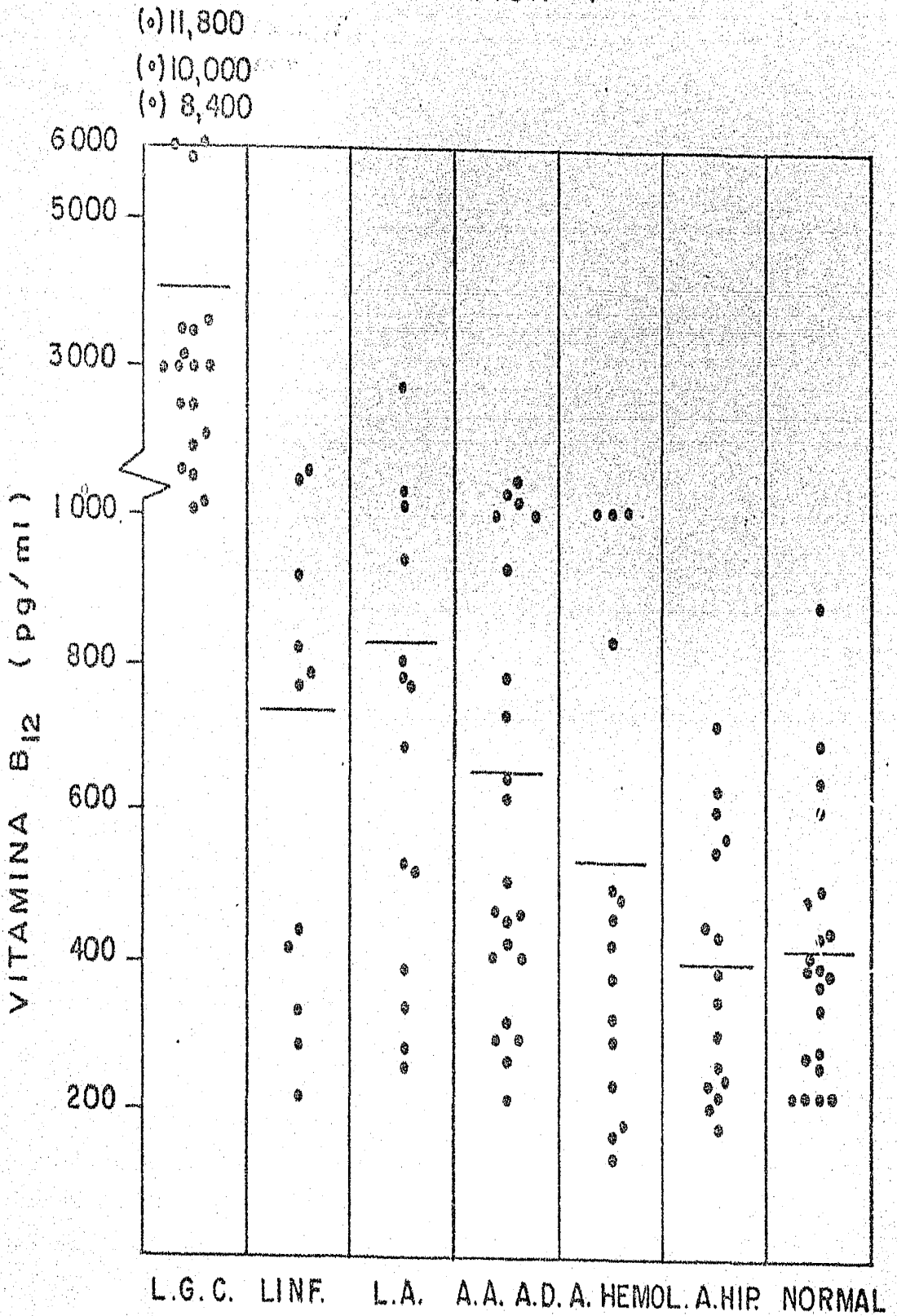
GRAFICA 2



GRAFICA 3



GRAFICA 4



COMENTARIOS

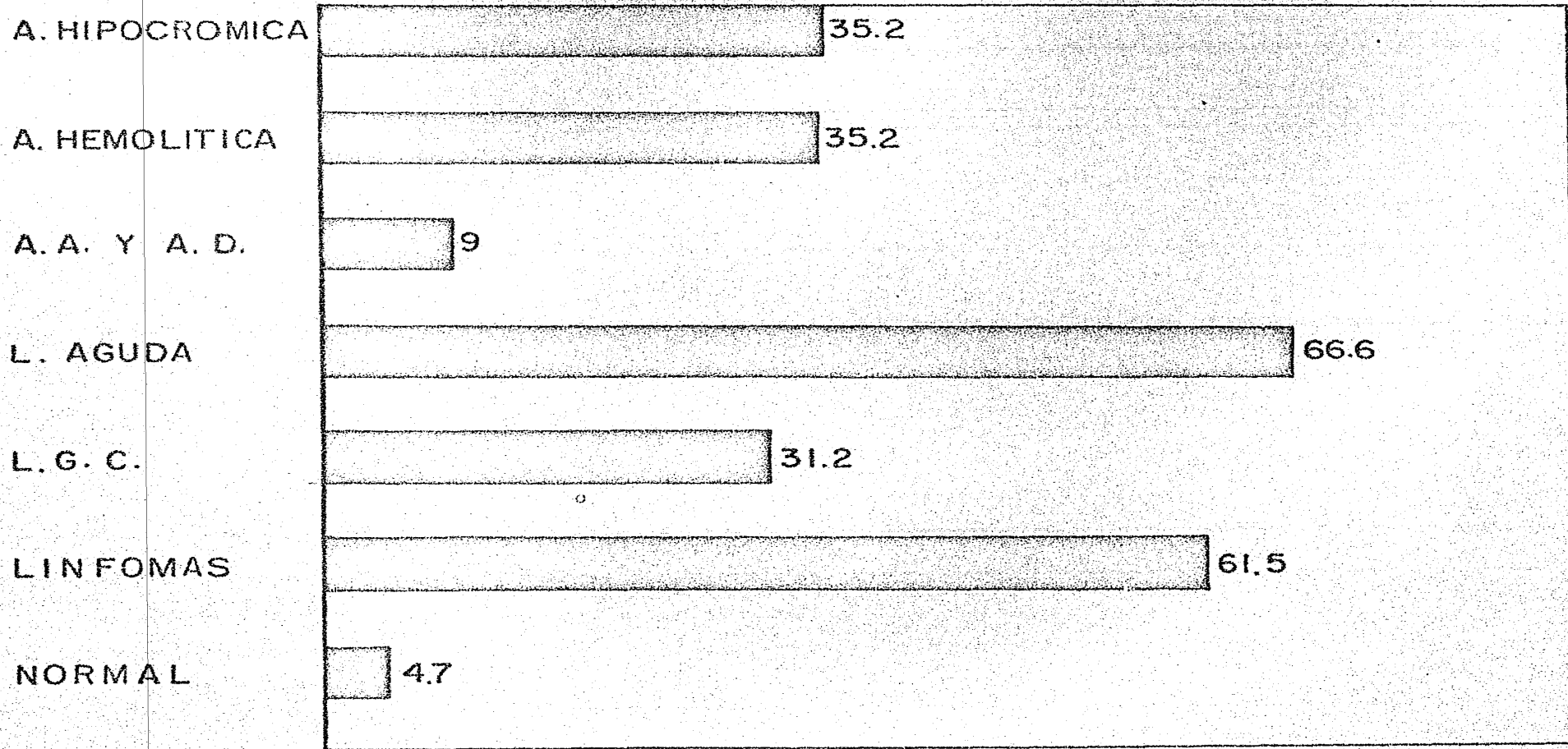
Aunque el promedio de ácido fólico en anemia hipocrómica no difiere significativamente del grupo control, si encontramos un mayor número de casos de deficiencia de esta vitamina, apreciándose (Gráfica 5) un porcentaje de deficiencia similar al encontrado en los casos de anemia hemolítica, en la que sí existe un valor promedio significativamente menor con relación a los normales (Gráfica 3). Es posible que si se aumenta el número de casos de anemia hipoferrémica, la diferencia con el grupo control se haga significativa.

Esta mayor incidencia de deficiencia de ácido fólico en enfermos con anemia hipocrómica hipoferrémica ya ha sido reportada por otros autores (42), sugiriéndose que además de un aumento en la demanda, puede haber un defecto en el mecanismo de transporte y utilización por disminuir la actividad de la formiminotransferasa (46-48).

Las anemias hemolíticas e hipoferrémicas tienen en común el cursar con eritropoyesis aumentada, como un mecanismo de compensación en el curso de la instalación de la anemia, siendo un factor limitante en las hipoferrémicas la depleción de las reservas corporales de hierro. Basados en esto y en los resultados de estudios previos (43), en los que se observa un descenso temprano de las cifras

DEFICIENCIA DE ACIDO FOLICO

%



GRAFICA 5

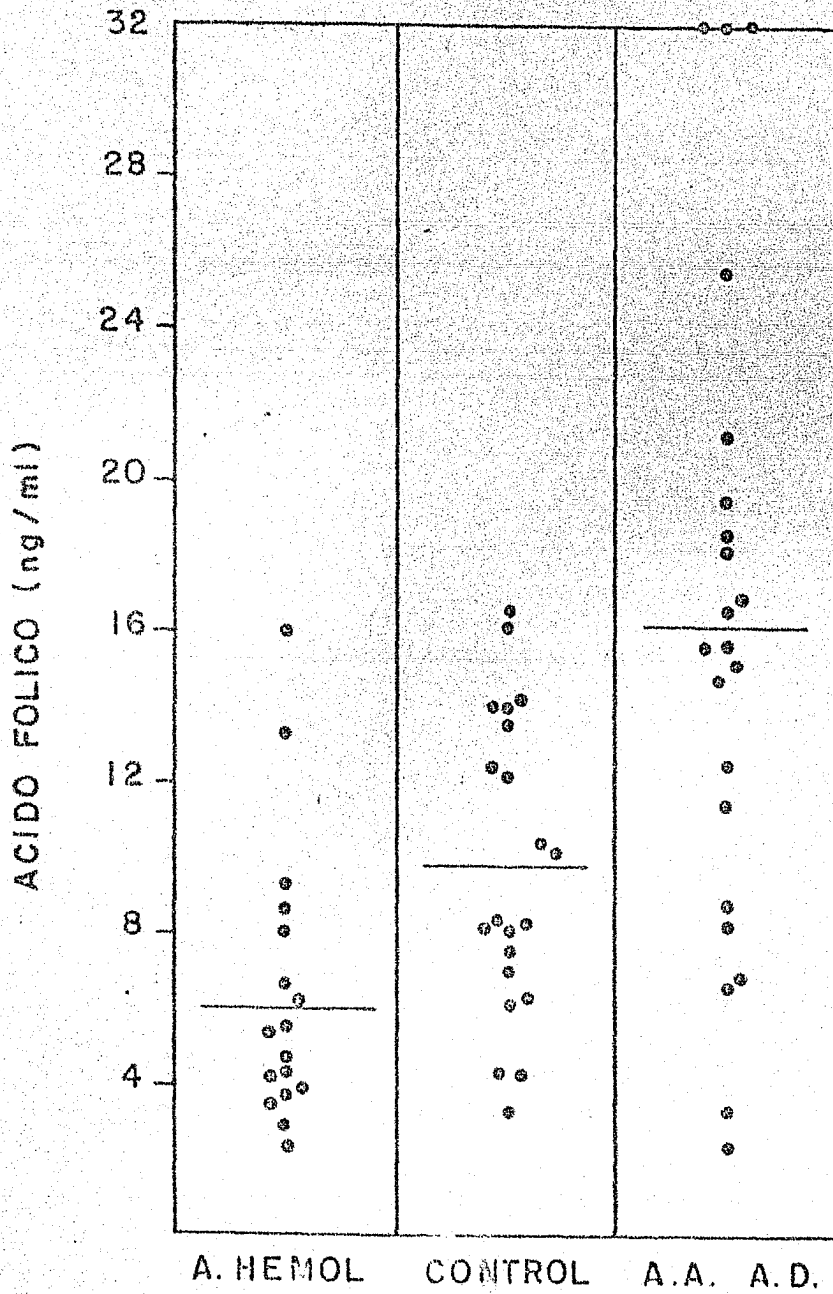
de ácido fólico en suero a niveles subnormales, se ha sugerido que la mayor incidencia de deficiencia de folatos en anemias hipoferrémicas parece ser secundaria a aumento de las demandas o a una movilización inadecuada de las reservas corporales de esta vitamina (49). Así pues, en los pacientes con anemia hipoferrémica y niveles bajos de A. F. en suero, que no responden adecuadamente al tratamiento con hierro, parece justificada la administración de folatos, aún cuando no existan cambios megaloblásticos (50).

Los valores subnormales de folatos en anemia hemolítica no ameritan mayor comentario, ya que incluso se ha demostrado que las crisis aplásticas en estos padecimientos responden al tratamiento con suplementos de ácido fólico (51-53).

Otro hecho que apoya la impresión de que los niveles de folato del suero guarden una relación inversa con el grado de eritropoyesis, lo constituye el haber encontrado el valor promedio más elevado de A. F. en los casos de anemia aplástica y dishemopoyética, que como es sabido cursan con eritropoyesis disminuida (Gráfica 6).

En ninguno de los casos con eritropoyesis aumentada encontramos deficiencia de vitamina B₁₂. No se puede explicar la mayor incidencia de deficiencia de folatos aduciendo que las reservas de esta vitamina sean menores (54), ya que la reserva hepática (55), el nivel sérico (26) y el contenido eritrocítico de folatos (48-56), son

GRAFICA 6



muy superiores a los correspondientes valores de vitamina B₁₂. Las explicaciones propuestas son: la vitamina B₁₂ se recupera parcialmente después de participar en la síntesis de DNA o las reservas de ácido fólico no son fácilmente movilizables (49).

De acuerdo con lo reportado por Banerjee (57), en los casos de anemias aplásica y dishemopoyética no encontramos correlación entre las cifras de leucocitos y el nivel sérico de vitamina B₁₂; sin embargo, nos llamó la atención el curso tórpido o fatal de los enfermos con niveles elevados de esta vitamina. Esta observación amerita comprobación mediante el estudio de un mayor número de casos, por el valor pronóstico que pudiera tener y aunada a otros datos de mal pronóstico (58-59), sería útil en la elección temprana de candidatos a trasplante de médula ósea.

La elevada incidencia de deficiencia de A. F. que encontramos en los pacientes con leucemia aguda, no es valorable por el hecho de que algunos recibían antifólicos como parte de su tratamiento. Estamos llevando a cabo un estudio prospectivo para tratar de correlacionar los niveles séricos de folatos y B₁₂ con la estirpe de las células leucémicas y la cifra de leucocitos.

La deficiencia de A. F. en los casos de linfoma que estudiamos, es atribuible a lo avanzado del padecimiento (9 de los 13 casos se encontraban en estadio IV-B), a malabsorción intestinal secundaria, a infiltración neoplásica en un caso y a tratamiento con co-

trimexazole, que interfiere con el metabolismo del A. F., en otro (60-61).

Se ha mencionado que la vitamina B₁₂ no aumenta en la leucemia aguda linfoblástica, en tanto que se encuentra muy elevada en las mieloblásticas. En nuestros casos de leucemia aguda (11 de estirpe linfoblástica), el valor promedio de la vitamina B₁₂ estaba aumentado, igual que el de los linfomas. Al no existir correlación con la cifra de leucocitos, pudiera atribuirse a infiltración y daño hepatocelular como ocurre en las hepatopatías crónicas y agudas en que la vitamina puede no ser disponible para la hematopoyesis por hallarse unida a una proteína anormal, liberada del hígado dañado (26-62-64).

La alta incidencia de deficiencia de A. F. encontrada en leucemia granulocítica crónica y la correlación entre los niveles de esta vitamina y las cifras de hemoglobina, sugiere que la deficiencia de folatos sea un factor coadyuvante en la patogenia de la anemia.

Como era de esperarse (12, 14, 15, 65), los valores mas elevados de vitamina B₁₂ los encontramos en los casos de leucemia granulocítica crónica. La correlación entre las cifras de leucocitos y los niveles de B₁₂, así como la falla de correlación entre esta vitamina y los granulocitos jóvenes circulantes o en médula ósea, apoyan lo señalado por varios autores (16, 25, 66), que los neutrófilos maduros muestran la capacidad mas alta de fijación de B₁₂ y que los granulocitos menos maduros, los blastos y los eosinófilos tienen poca o

ninguna capacidad de fijación de B₁₂, de lo que se ha inferido que la denominada transcobalamina III deriva en parte de los granulocitos (21, 24).

R E S U M E N

Se determinaron por métodos microbiológicos los niveles séricos de ácido fólico y vitamina B₁₂ en 21 sujetos normales y 102 pacientes con diversos padecimientos hematológicos.

Se encontró una elevada incidencia de deficiencia de A. F. en los casos de anemia hipocrómica. En las anemias hemolíticas el valor promedio de A. F. fue significativamente menor que el del grupo control.

El valor promedio mas alto de A. F. correspondió al grupo de anemias aplásticas y dishemopoyéticas.

Los niveles séricos de A. F. fueron significativamente menores que los normales, en los casos de linfoma y leucemia granulocítica crónica. En estos últimos hubo correlación entre los niveles de hemoglobina y ácido fólico.

Parece existir una relación inversa entre el grado de eritropoyesis y los niveles de A. F.

La deficiencia de A. F. en los pacientes con leucemia aguda estudiados, no es valorable por el tratamiento que recibían.

La deficiencia de A. F. puede ser un factor coadyuante en la anemia de los pacientes con leucemia granulocítica crónica.

En ningún caso se encontró deficiencia de vitamina

B₁₂. El valor promedio mas elevado correspondió al grupo de pacientes con leucemia granulocítica crónica y es significativamente mayor que el normal. También resultó significativo el valor promedio en los grupos de linfomas, leucemia aguda y anemias aplástica o dishemopoyética.

En leucemia granulocítica crónica se encontró correlación directa positiva entre los niveles de vitamina B₁₂ sérica y las cifras de leucocitos en sangre periférica. No hubo correlación entre los niveles de esta vitamina y el porcentaje de granulocitos jóvenes o blastos en sangre periférica o médula ósea.

En los casos de leucemia aguda, la mayoría linfoblásticas, no hubo correlación entre las cifras de vitamina B₁₂ y leucocitos. Es posible que los niveles elevados de B₁₂ en los casos de leucemia aguda y linfomas, sean debidos a infiltración y daño hepatocelular.

La evolución fatal y el curso insatisfactorio observados en los pacientes con anemia aplástica o dishemopoyética, con niveles séricos elevados de vitamina B₁₂, amerita un estudio mas amplio para definir su valor pronóstico.

BIBLIOGRAFIA

1. - Daft, F. S. y Sebrell, W. H. : *The successful treatment of granulocytopenia and leukopenia in rats with crystalline folic acid.* U. S. Pub. Health Service, Pub. Health Rep. 58 : 1542, 1943.
2. - Snell, E. E. y Peterson, W. H. : *J. Bact.* 39 : 273, 1940.
3. - Mitchell, H. K. y Snell, E. E. : *The microbiological assay of folic acid.* Univ. of Texas Pub. No. 4137 : 36, 1941.
4. - Ross, G. I. M. : *Vitamin B₁₂ assay in body fluid using E. gracilis.* *J. Clin. Path.* 5 : 250, 1952.
5. - Teply, L. J. y Elvehjem, C. A. : *Titrimetric determination of "Lactobacillus casei factor" and "Folic acid".* *J. Biol. Chem.* 157 : 303, 1945.
6. - Swendseim, M. E. : *The concentration of folic acid in leukocytes. Observation on normal subjects and persons with leukemia.* *Cancer Res* 11 : 864, 1951.
7. - Hoffbrand, A. V. : *Leukocyte folate in vitamin B₁₂ and folate deficiency and in leukemia.* *Brit. J. Haemat.* 13 : 954, 1967.
8. - Rao, P. B. R. y Lagerlof, B. : *Low serum folic acid in malignancy.* *Lancet* 1 : 1192, 1963.
9. - Rao, P. B. : *Folic acid activity in leukemia and cancer.* *Cancer Res.* 25 : 221, 1965.
10. - Hoogstraten, B., Baker, H. y Gilbert, H. S. : *Serum folate and serum vitamin B₁₂ in patients with malignant hematologic diseases.* *Cancer Res.* 25 : 1933, 1965.
11. - Joubert, M.; Jansen, S. E. y Retief, F. P. : *Folate status and urinary folate excretion in malignant disease.* *S. Afr. Med. J.*, 48 : 1421, 1974.
12. - Beard, M. F. y Pitney, W. R. : *Serum concentrations of vitamin B₁₂ in patients suffering from leukemia.* *Blood* 9 : 789, 1954.

13. - Beard, M.F. y Pitney, W.R.: Serum concentrations of vitamin B₁₂ in acute leukemia. *Ann Int. Med.* 41 : 323, 1954.
14. - Gottlieb, C.W.; Retief, F.P. y col.: Correlation of B₁₂ binding proteins with disorders of B₁₂ metabolism: relation to hypo and hyperleukocytic states and leukocyte turnover. *J. Clin. Invest.* 45 : 1016, 1966.
15. - Raccuglia, G.; y Sacks, M.S.: Vitamin B₁₂ binding capacity of normal and leukemic sera. *J. Lab. Clin. Med.* 50 : 69, 1957.
16. - Meyer, L. y Bertcher, R.: Co 60 vitamin B₁₂ binding capacity of serum in persons with hematologic disorders, various medical diseases and neoplasms. *Acta Med. Scand.* 169 : 557, 1961.
17. - Mikkonen, L.: A diagnostic test for chronic myelogenous leukemia based on abnormalities of B₁₂ binding. *Acta Med. Scand.* 181 : 591, 1967.
18. - Rachmilewitz, B. y col.: Serum vitamin in leukemias and malignant lymphomas. *Blood* : 12 : 804, 1967.
19. - Mollin, D.L. y Ross, G.I.M.: Serum B₁₂ concentration in leukemia and in some other hematological conditions. *Brit. J. Hematol.* 1 : 155, 1955.
20. - Gilbert, H.S.; Krauss, S.; Herbert, V. y col.: Value of serum unsaturated B₁₂ binding capacity in differentiating polycythemia vera from relative polycythemia as an a parameter in evaluating effects of therapy. *Clin. Res.* 15 : 278, 1967.
21. - Scott, J.M.; Bloomfield, F.J. y col.: Studies on derivation of Transcobalamin III from granulocytes. *J. Clin. Invest.* 53 : 228, 1974.
22. - Bloomfield, F.J. y Scott, J.M.: Identification of a new vitamin B₁₂ binder (Transcobalamin III) in normal serum. *Brit. J. Haemat.* 22 : 33, 1972.
23. - Hall, C.A.; y Finkler A.E.: Measurement of the amounts of the individual vitamin B₁₂ binding proteins in plasma. *Blood* 27 : 611, 1966.
24. - Hall, C.A.: Annotation: Transport of vitamin B₁₂ in man. *Brit. J. Haemat.* 16 : 429, 1969.

25. - Carmel, R.: Vitamin B₁₂ binding protein abnormality in subjects without myeloproliferative disease. *Brit. J. Haemat.* 22 : 43, 1972.
26. - Waters, A.H. y Mollin, D.L.: Studies on the folic acid activity of human serum. *J. Clin. Path.* 14 : 335, 1961.
27. - Matheus, D.M.: Observation on the estimation of serum vitamin B₁₂ using *Lactobacillus leichmannii*. *Clin. Sci.* 22 : 101, 1962.
28. - Crosby, W.H.; Munn, J.I. y Furth, F.W.: Standardizing a method for clinical hemoglobinometry, *U.S. Armed Forces Med. J.* 5 : 693, 1954.
29. - Wintrobe, M.M.: Anemia. *Arch. Int. Med.* 54 : 256, 1934.
30. - Brecher, G.: New methylene blue as a reticulocyte stain. *Am. J. Clin. Path.* 19 : 895, 1949.
31. - Loría, A. y Monge, B.: Técnicas de dosificaciones séricas de hierro y de capacidad de fijación de hierro. *Rev. Invest. Clin.* 20 : 429, 1968.
32. - Tjio, J.H. y Whang, J.: Chromosome preparations of bone marrow cell without prior *in vitro* culture or *in vivo* colchicine administration. *Stain. Technol.* 37 : 17, 1962.
33. - Cartwright, E.G.: *Diagnostic Laboratory Hematology*. Grune & Straton, Inc. Third edition p. 289, 1972.
34. - Daland, G.A. y Castle, W.B.: A simple and rapid method for demonstrating sickling of the red blood cells: the use of reducing agents. *J. Lab. Clin. Med.* 33 : 1085, 1948.
35. - Cartwright, E.G.: Blood pigments related to hemoglobin, total heme pigments. *Diagnostic Laboratory Hematology*. Gruen & Straton Inc. Fourth Ed. p. 318, 1973.
36. - Singer, K. y Chernoff, A.I.: Studies on abnormal hemoglobins. I. Their demonstration in sickle cell anemia and other hematologic disorders by means of alkali denaturation. *Blood* 6 : 413, 1951.

37. - Nymon, M. : Serum haptoglobin. *Scand. J. Clin. & Lab. Invest.* (suppl 39) 11 : 1, 1959.
38. - Graham, J. L. y Grumbaum, B. W. : A rapid method for micro-electrophoresis and quantitation of hemoglobin on cellulose acetate. *Amer. J. Clin. Path.* 39 : 567, 1963.
39. - Ham, T.H. : Chronic hemolytic anemia with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. A study of the mechanism of hemolysis in relation to acid-base equilibrium. *New Eng. J. Med.* 217 : 915, 1937.
40. - Hartmann, R. C. y Jenkins, D.E. : The "sugar-water" test for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *New Eng. J. Med.* 275 : 155, 1966.
41. - Brubaker, L.H. y col. : A potential rapid screening test for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *New Eng. J. Med.* 288 : 1059, 1973.
42. - Johnson, P.H.; Fonest-Hay, I. y Giles, C. : Vitamin B₁₂ serum folate and hypochromic anemia. *Brit. Med. J.* 1 : 643, 1969.
43. - Vaz Pinto, A., Santos, F. y col. : Injecao intravenosa de Fe-dextran en pacientes ferropênicos. Dosagem de Fe, ácido fólico e vitamina B₁₂ *Rev. Bras. Pesquisas Med. Biol.* 5 : 133, 1972.
44. - Velez, H. ; Restrepo, A. y col. : Folic acid deficiency secondary to iron deficiency in man. *Am. J. Clin. Nutr.* 19 : 27, 1966.
45. - Sánchez Medal, L. : Aplastic anemia. XV Congress of the International Society of Hematology. Jerusalem, Sep. 1974.
46. - Chanarin, I. ; Rolherman, D. y Berry, V. : Iron deficiency and its relation to folic-acid status in pregnancy: results of a clinical trial. *Brit. Med. J.* 1 : 480, 1965.
47. - Omer, A. ; Finlayson, N.D.C. y Shearmen, D.J.C. : Plasma and erithrocyte folate in iron deficiency and folate deficiency. *Blood* 35 : 821, 1970.
48. - Hoffbrand, A. V. ; Beverly, F.A. y Mollin, D. L. : Method of assay of red cell folate activity and the value of the assay as a test for folate deficiency. *J. Clin. Path.* 19 : 17, 1966.

49. - Vaz, A. ; Torras, V. y col. : *Acido fólico, vitamina B₁₂ y eritropoyesis*. *Sangre* 20 : 184, 1975.
50. - Willoughby, M. L. y Jewell, F. J. : *Investigation of folic acid requirements in pregnancy*. *Brit. J. Hemat.* 2 : 1568, 1968.
51. - Chanarin, I. ; Dacie, J. V. y Mollin, D. L. : *Folic acid deficiency in hemolytic anemia*. *Brit. J. Haematol.* 5 : 245, 1959.
52. - Purugganan, G. ; Leikin, S. y Gautier G. : *Folate metabolism in erythroid hyperplastic and hypoplastic states*. *Am. J. Dis. Child.* 122 : 48, 1971.
53. - Jandl, J. H. y Greenberg, M. S. : *Bone marrow failure due to relative nutritional deficiency in Cooley's hemolytic anemia: painful "erythropoietic crises" in response to folic acid*. *New Eng. J. Med.* 260 : 461, 1959.
54. - Beck, W. S. : *Vitamin B₁₂ deficiency*, in *Hematology by Williams, W. J. ; McCraw - Hill Book Company*, p. 273, 1972.
55. - Chanarin, I. Hutchinson, M. y col. : *Hepatic folate in man*. *Brit. Med. J.* 1 : 396, 1966.
56. - Harrison, R. J. : *Vitamin B₁₂ levels in eritrocites in normal subjects and in pernicious anemia*. *J. Clin. Path.* 23 : 219, 1970.
57. - Banerjee, D. K. : *Free serum vitamin B₁₂ in certain hematologic disorders*. *Blood* 15 : 630, 1960.
58. - Sánchez Medal, L. y Dorantes, S. : *Aplastic anemia*. *Paediatrician* 3 : 74, 1974.
59. - Camitta, B. M. ; Rapoport, J. M. y col. : *Selection of patients for boen marrow transplantation in severe aplastic anemia*. *Blood* 45 : 355, 1975.
60. - Waxman, S. ; Corcino, J. y Herbert, V. : *Drugs, toxins and dietary amino-acids affecting vitamin B₁₂ or folic acid absorption or utilization*. *Amer. J. Med.* 48 : 599, 1970.
61. - Sive, J. ; Green, R. y Herbert, V. : *Effect of trimethoprim on folate dependent DNA synthesis in human bone marrow*. *J. Clin. Pathol.* 25 : 194, 1972.

62. - Stevenson, T.D. y Beard, M.: *Serum vitamin B₁₂ content in liver disease.* *New Eng. J. Med.* 260 : 206, 1959.
63. - Halstead, J.A.; Carrol, J. y Rubert, S.: *Serum and tissue concentrations of vitamin B₁₂ in certain pathologic states.* *New Eng. J. Med.* 260 : 575, 1959.
64. - Herbert, V. y Tisman, G.: *Hematologic effects of alcohol.* *Ann NY Acad. Sci.* 252 : 307, 1975.
65. - Herbert, V.: *Diagnostic and prognostic values of measurement of serum vitamin B₁₂ - binding proteins.* *Blood* 32 : 305, 1968.
66. - Meyer, L.M.: *Co⁶⁰ binding capacity of human leukocytes.* *Blood* 19 : 229, 1962.