

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES "CUAUTITLAN"



"Niveles de Folatos Sanguíneos:  
Determinación de Valores en Individuos  
Normales y en Pacientes con Cirrosis  
Hepática"

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

Presenta:

**CANDELARIA GOMEZ MATURANO**  
EN COLABORACION CON  
**LOURDES PINEDA AYALA**

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
CUAUTITLAN IZCALLI, MEXICO, JULIO DE 1985



## **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 está 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.

**\* NIVELES DE FOLATOS SANGUINEOS:**

**DETERMINACION DE VALORES EN INDIVIDUOS NORMALES**

**Y EN PACIENTES CON CIRROSIS HEPATICA\***

## C O N T E N I D O

OBJETIVOS .....	III
I GENERALIDADES .....	1
II INTRODUCCION .....	3
1 Historia .....	3
2 Aspectos fisiológicos de los folatos .....	3
3 Fisopatología .....	12
a) Alcoholismo y cirrosis hepática como causas de deficiencia de folato .....	14
4 Determinación de los niveles de folatos .....	20
III HIPOTESIS .....	25
IV MATERIAL Y METODOS	
1 Sujetos normales .....	27
2 Pacientes .....	27
3 Método microbiológico para la determinación de folatos .....	29
V RESULTADOS	
1 Valores normales .....	33
2 Niveles de folatos en los pacientes .....	41
3 Comparación de los niveles de folatos entre los pacientes y los sujetos normales .....	45
4 Comparación de los niveles de folatos entre los grupos de pacientes .....	49

5	Correlación entre los niveles de folato sérico y e-ritrocitario en los grupos de pacientes .....	52
6	Folato en pulque .....	52
7	Niveles de folatos en sujetos bebedores y no bebedores de pulque .....	57
<b>VI DISCUSION</b>		
1	Valores normales .....	64
2	Niveles de folatos en los pacientes .....	65
3	Niveles de folatos en sujetos bebedores y no bebedores de pulque .....	67
<b>VII CONCLUSIONES</b> .....		
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....		
		72

## O B J E T I V O S

- 1.- ESTUDIAR LOS NIVELES DE FOLATO SERICO Y ERITROCITARIO EN SUJETOS NORMALES DE UNA POBLACION DE LA ZONA NORTE DEL D.F.
  
- 2.- ESTUDIAR LOS NIVELES DE FOLATO SERICO Y ERITROCITARIO EN:
  - a) SUJETOS CON CIRROSIS HEPATICA POR ALCOHOLISMO CRONICO
  - b) SUJETOS CON CIRROSIS HEPATICA, NO ALCOHOLICOS
  - c) SUJETOS CON ALCOHOLISMO CRONICO.
  
- 3.- DETERMINAR SI EXISTE ALGUNA RELACION ENTRE LOS NIVELES DE FOLATO SERICO Y ERITROCITARIO DE LOS SUJETOS QUE INGIEREN PULQUE Y LOS DE AQUELLOS QUE NO LO INGIEREN.

## I GENERALIDADES

Se denomina folatos a una familia de compuestos integrada por el ácido fólico y sus derivados. Es una vitamina que no puede ser sintetizada por los mamíferos ni por otros animales por lo que es obtenida de fuentes exógenas, como son los alimentos de origen vegetal y animal y de la flora bacteriana intestinal. Se les encuentra en todos los seres vivos, bacteriófagos, bacterias, levaduras, mamíferos, aves y vegetales, en forma de mezclas complejas.

Los folatos son considerados factores alimenticios esenciales para el organismo humano y una deficiencia de ellos puede producir una alteración en la maduración de las células, lo cual se observa principalmente en las de la serie eritropoyética originando lo que se conoce como anemia megaloblástica. Esta enfermedad se presenta debido a que los folatos son necesarios para la síntesis normal del ácido desoxiribonucleico (DNA).

La deficiencia de folatos puede ser debida a una gran variedad de factores como son: una absorción defectuosa, degeneración de la flora intestinal, interferencia con medicamentos, una dieta pobre y se ha informado que también en la cirrosis hepática y en el alcoholismo puede presentarse deficiencia.

Los valores normales de folato sérico y eritrocitario reportados en la literatura van de 2 a 45 ng/ml y de 24 a 875 ng/ml respectivamente. Debido a esta variación en los valores es necesario determinar los normales para una población mexicana de

la zona norte del D.F., que nos servirán además como niveles de referencia para la comparación con los de los sujetos enfermos.



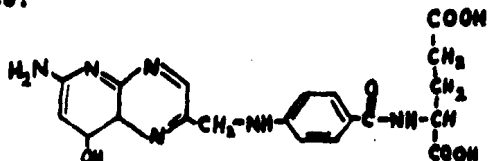
## II INTRODUCCION

### 1 HISTORIA

El síndrome de carencia de folatos fué descrito por primera vez en monos, en 1919 (32). No fué sino hasta 1931 cuando se comenzó a investigar formalmente sobre sus funciones biológicas. Al ácido fólico ( del latín folium = hoja ) se le ha conocido con diversos nombres según la situación en la que se le descubría, así en 1931 se le llamó "Factor de Wills" (76), en 1938 Vitamina M (17) y Factor U (67), en 1939 Factor R (53), en 1940 Factor del eluado de la norita ( Factor que mantiene el crecimiento del Lactobacillus casei ) (65), en 1941 Vitamina B<sub>9</sub> (39), Polacina (75) y finalmente en este mismo año se le denominó Acido Fólico, por Mitchell, Snell y Williams (53).

### 2 ASPECTOS FISIOLÓGICOS DE LOS FOLATOS

El nombre químico del ácido fólico es ácido pteroilglutámico, compuesto formado por un núcleo de pteridina, el ácido para-aminobenzoico y el ácido glutámico, cuya estructura es la siguiente:



Los derivados del ácido fólico tienen la característica es tructural de poseer grupos glutamato adicionales (derivados poliglutamato) y otros cambian en la posición pterofilo (derivados pterofilo). Los primeros se localizan predominantemente en sus fuentes naturales ( vegetales ), mientras que los segundos son los que se forman, durante el metabolismo del folato en el organismo humano (37), y de ellos se conocen 7 especies (Tabla 1).

El folato se absorbe principalmente en el yeyuno (30) por medio de dos mecanismos que son: Transporte activo y Difusión pasiva.

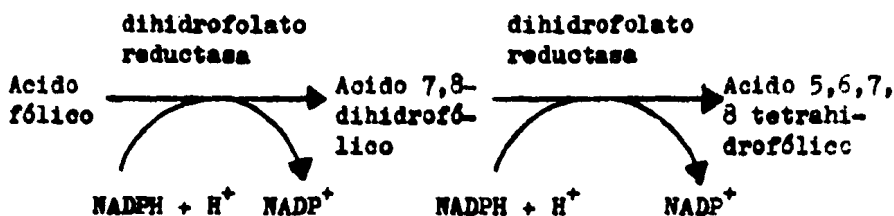
Para ser absorbido el folato es necesario que los poliglutamatos de los alimentos de origen vegetal principalmente, sean hidrolizados hasta mono y tal vez di y triglutamatos (37). En el yeyuno se encuentran gran cantidad de enzimas que desconj<sup>u</sup>gan el folato (4), estas enzimas hidrolizan a las cadenas polipeptídicas unidas al glutamilo en los derivados poliglutamato y se denominan "Folil poliglutamato hidrolasas" (32), Pteroil gama-glutamil hidrolasas ( EC 3.4.12.10 )(45), también conocidas como Folil conjugasas (57).

Por otra parte se ha encontrado que los folatos monoglutamilo reducidos o no, se absorben por medio del transporte activo, que es un proceso específico estructural (37).

En el intestino, el folato puede reducirse, metilarse y formilarse, sin embargo cuando la concentración de folato es gran de el sistema reductor se satura y puede atravesar la mucosa intestinal sin sufrir cambio (37). Una vez absorbido es captado por proteínas séricas que se encargan de incorporarlo a la circulación sanguínea para ser distribuido a los lugares de transformación metabólica.

La importancia del ácido fólico radica en que es el precur

por activo de varias coenzimas transportadoras de residuos de un solo carbono, para lo cual es necesario que sea reducido hasta tetrahidrofolato ( $H_4$ folato) mediante los siguientes pasos (32,74):



Los residuos de un solo carbono pueden estar en forma de: formilo, formiato, metilo, hidroximetilo, metileno, metenil, formimino, todos ellos metabólicamente interconvertibles (32, 74) (Fig.1).

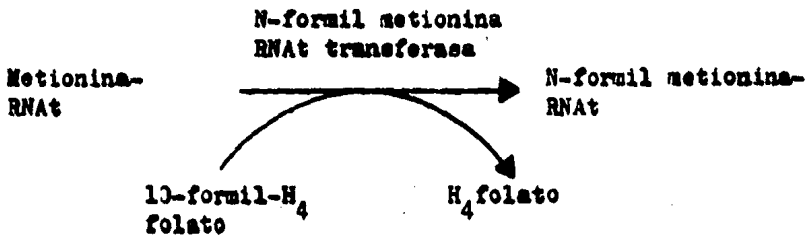
El  $H_4$ folato es una coenzima capaz de aceptar residuos de un solo carbono para formar los siguientes compuestos donadores (coenzimas activas):

1) El 5-NHGR- $H_4$ folato o 5-formimino  $H_4$ folato, es la coenzima que actúa únicamente en la formilación del ácido glutámico en el curso de la degradación metabólica de la histidina, donando su grupo formimino ( 32,74 ).

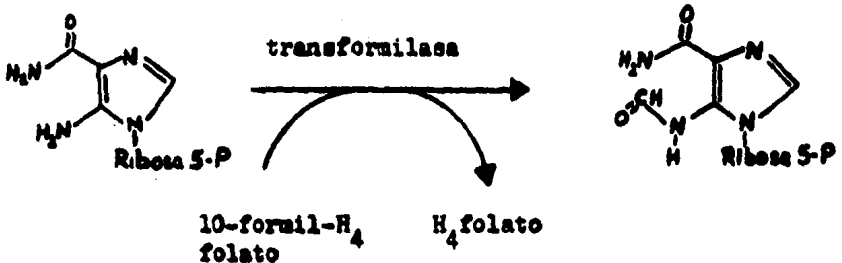


2) El 10-HCO-H<sub>4</sub> folato o 10 formil tetrahidrofolato, es una coenzima que dona su grupo formilo en muchas vías sintéticas por lo que se le considera la principal forma activa de las coenzimas del folato:

a) Es la fuente del grupo formilo sobre la N-formil metionina-RNAt transferasa que en los procariontas inicia la síntesis de las cadenas peptídicas sobre los ribosomas (32,74)

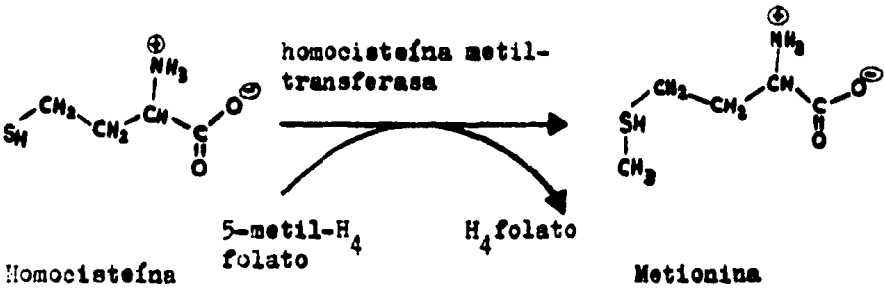


b) Actua como fuente de un carbono en la posición 2 del anillo purínico (32,74):

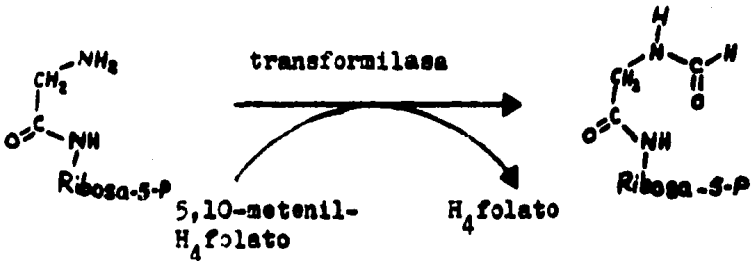


3) El 5,10-metilen-H<sub>4</sub> folato o 5,10-metilen tetrahidrofolato puede convertirse en el 5-CH<sub>3</sub>-H<sub>4</sub> folato o 5 metil tetrahidro folato, por medio de una reductasa dependiente de NAD. Este grupo metilo puede ser transferido para la metilación de la

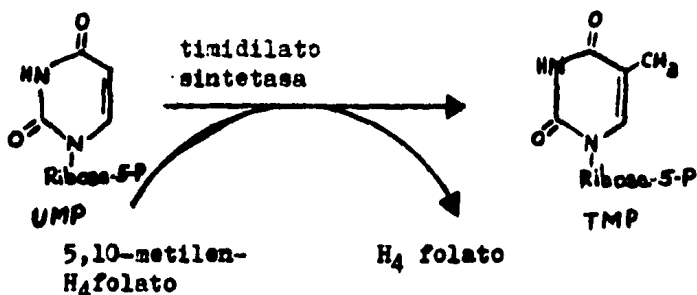
homocisteína y formar así la metionina (32,74), principalmente. Este grupo metilo es transferido a la cobalamina para formar la metil-cobalamina que es en si el donador de grupos metilo en dicha reacción.



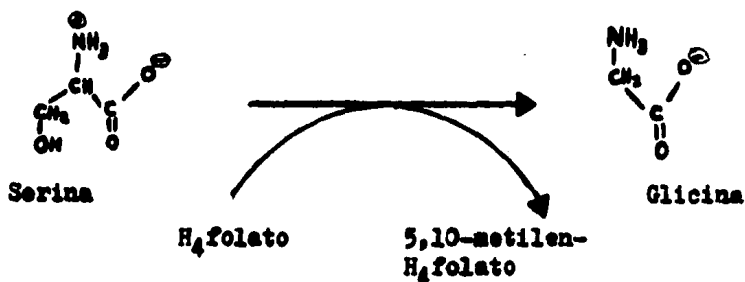
4) El 5,10-CH= H<sub>4</sub> folato o 5,10 metenil tetrahydrofolato es la fuente del carbono en la posición 8 del anillo purínico(32)



5) El 5,10-metilen- H<sub>4</sub> folato o 5,10-metilen-tetrahydrofolato es la fuente del metilo en la metilación del 2'desoxiuridín monofosfato para la formación del timidínmonofosfato (timidilato), en la síntesis de las pirimidinas (32,74)



También proporciona el abastecimiento del carbono beta de la serina en la reacción de conversión de glicina a serina(32, 74)



Es indiscutible la importancia de estas coenzimas del folato, sobre todo en la síntesis de las bases púricas y pirimidicas, que se utilizan en la síntesis de novo del DNA(32,74).

Los folatos en el organismo son transportados por los fluidos corporales a su sitio de utilización metabólica. Hasta hace poco se sabía que eran acarreados por proteínas séricas como la albúmina(59), reportándose después que el transporte se efectuaba por medio de tres proteínas séricas, una macroglobulina, la transferrina y la albúmina en este orden cuanti

Dihidropteroilglutamato

Tetrahidropteroilglutamato

10-formil-tetrahidropteroilglutamato

5,10-metenil-tetrahidropteroilglutamato

5,10-metilen-tetrahidropteroilglutamato

5-formimino-tetrahidropteroilglutamato

5-metil-tetrahidropteroilglutamato

**TABLA 1. Derivados pterofilo que se forman durante el metabolismo del folato en el organismo (1).**

tativamente (26) actualmente se dice que el folato sérico tiene dos tipos de enlazantes, uno específico denominado FABP (Folic Acid Binding Protein) cuyo enlace consiste en la unión entre la porción pterofilo del folato y la proteína, este enlace es de tipo covalente y de alta afinidad (37). Dicho enlazante fué reportado por primera vez al ser aislado de leucocitos, en 1970 (59) y se encuentra en todos los fluidos corporales incluyendo la leche (71) se le ha aislado de la leche de vaca, eritrocitos y de tejidos humanos como la placenta (40).

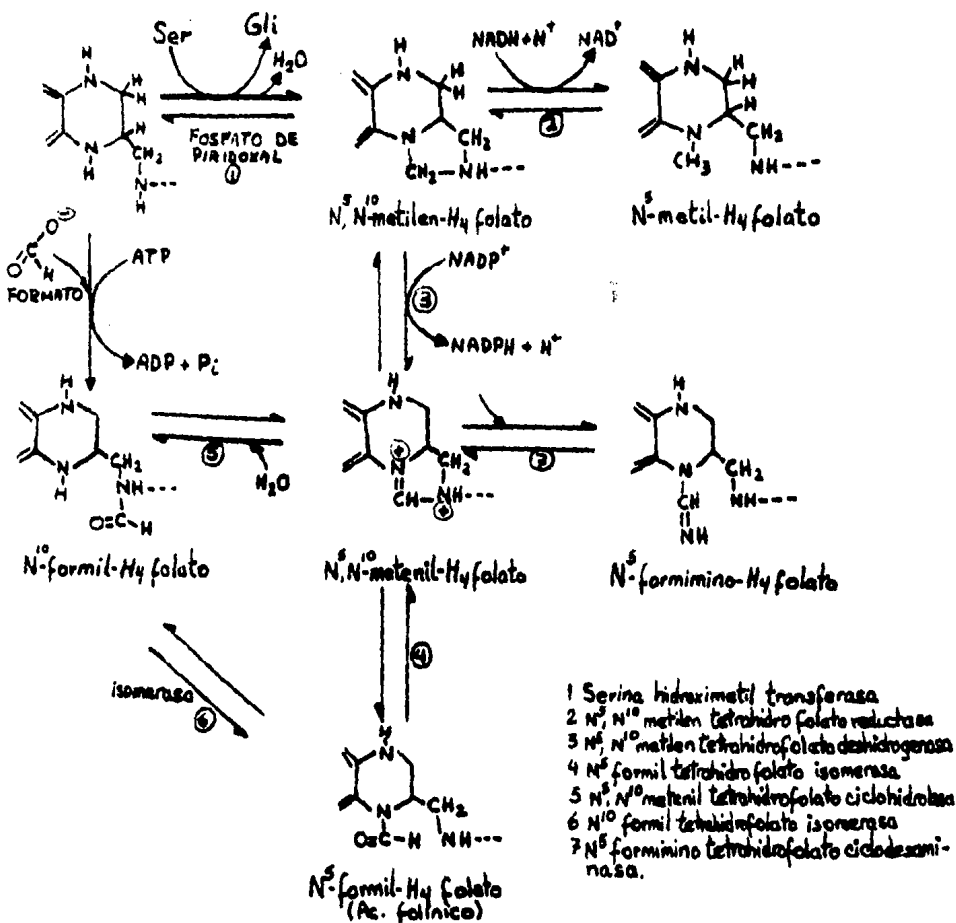


Fig. 1. En esta figura se observa la interconvergencia metabólica de algunos de los residuos de un solo carbono que pueden ser transportados por el folato (32,74).



Estudios realizados en leche humana y de vaca han demostrado que este enlazante es de naturaleza glucoprotéica (72). También se sabe que esta proteína específica tiene gran afinidad por los folatos oxidados, lo cual se ha demostrado en estudios en leche y suero (37), su función es la de transportar los folatos oxidados del suero o del intestino hasta el hígado donde son reducidos (22). También se ha sugerido que esta proteína específica funciona como almacén del folato intracelular, actuando de esta manera como un importante regulador y se ha mencionado además que es un derivado de la membrana celular (72). Esta proteína tiene un peso molecular de 30,000 a 40,000 d, la disociación del folato es lenta a pH de 3.5 y se puede presentar una competencia por el enlace con los análogos del folato (40), el metrotexato se une a ella pero en baja proporción (71), mientras que el etanol no inhibe la unión ni se enlaza a esta proteína (71).

Otros estudios sobre los niveles del enlazante específico en suero muestran que están bajo una influencia hormonal y no hay relación directa con el estado nutricional en folato de los sujetos (22). Se han encontrado niveles de FABP en pacientes con deficiencia de folatos, más altos que en los sujetos normales (72), probablemente para contrarrestar la deficiencia.

El otro enlazante es de tipo no específico y puede considerarse formado por un grupo de proteínas séricas ya mencionadas, la macroglobulina, la transferrina y la albúmina (26) cuya unión es de tipo electrostático entre los grupos carboxilo del folato y las cargas positivas de la proteína, es débil y de baja afinidad.

Se ha observado que el ácido acetil salicílico inhibe el enlace de las proteínas séricas con el folato (1) pudiendo causar así una baja de folato sérico.

También se ha estudiado el enlace del folato en los eritrocitos y se encontró que existe una proteína muy similar a la hemoglobina que tiene baja afinidad por los folatos y que es independiente de la FABP. Su función no se ha esclarecido aún, pero se ha sugerido que probablemente la hemoglobina también enlaza al folato y que si esta proteína fuera la misma hemoglobina serviría como medio de transporte y de almacenamiento del cual, el folato puede ser removido fácilmente en casos de requerimiento (29,43). Se ha mencionado que gran cantidad de folato en los eritrocitos esta unido a macromoléculas por medio de un enlace no específico (37,44), pero no está claro aún. El principal derivado del folato en los eritrocitos es el 5-metil- $H_4$ folato(37).

Los monoglutamatos después de ser absorbidos se deben convertir a poliglutamatos para ser almacenados por las células, esto se efectúa por medio de una ligasa intracelular (37).

### 3 FISIOPATOLOGIA

La deficiencia de folato así como de vitamina  $B_{12}$  produce anemia megaloblástica debido a una síntesis defectuosa de purin y pirimidin nucleótidos necesarios para la síntesis de novo del DNA, que ocasiona un crecimiento celular trastornado. La falta del nuevo DNA disminuye la mitosis (52), es probable que exista una prolongación de la fase S en el ciclo intermitótico, es decir una prolongación del tiempo requerido para completar la síntesis del DNA (11).

La duplicación del DNA y la división celular se encuentran bloqueadas, mientras que la síntesis del citoplasma ( RNA y proteínas) es normal. Cuando se prolonga la inhibición de dicha síntesis del DNA se pierde permanentemente la capacidad de división y conduce eventualmente a la muerte celular prematura (60)

ó a divisiones anormales (75).

La anemia megaloblástica es una enfermedad en la que se presentan anomalías morfológicas y funcionales de las células sanguíneas y médula ósea. Sin embargo no siempre existe anemia por lo que este término es incorrecto. En este trastorno, la eritropoyesis sufre una transformación megaloblástica, es decir, pasa de un aspecto normoblástico a uno megaloblástico, aunque también hay eritropoyesis normal, tanto en las células de la serie roja como en la granulocítica y plaquetaria (75) y además en las células de otros sistemas de constante regeneración (mucosa bucal, epitelios gastrointestinal, cervical y vaginal)(37).

Los megaloblastos contienen una cantidad muy elevada de RNA (de ahí su basofilia) y normal o ligeramente disminuída de DNA (75).

Los principales síntomas de la deficiencia de folato son: anemia en ocasiones, diarrea, pérdida de peso, debilidad e ictericia por la hemólisis (27). Los signos más característicos son: hematopoyesis megaloblástica y leucopenia. (27).

El diagnóstico de esta enfermedad se lleva a cabo mediante la búsqueda de anomalías morfológicas en sangre y en médula ósea, además de la determinación de los niveles de folatos sanguíneos (27).

El tratamiento a seguir en una deficiencia de folatos, es la administración por vía bucal de una dosis de 0.1 mg de folato al día cuando se trata de una deficiencia nutricional, sin embargo cuando la deficiencia de folato esta asociada con alcoholismo, embarazo o artritis reumatoide la dosis debe ser de 0.2 mg al día (27).

La deficiencia de folatos puede presentarse por diversas causas como son: dieta pobre en folato (34), en el embarazo por un aumento de los requerimientos (24,29), cáncer por la división a

celerada de las células tumorales (50), en el tratamiento con me troxato que es utilizado como antineoplásico, ya que inhibe competitivamente a la reductasa que actúa en el paso de la reducción del dihidrofolato (32), aunque otros autores reportan que actúa a nivel de la reducción tanto del pteroilglutamato como del dihidrofolato(37), en el tratamiento con anticonvulsivantes como la difenilhidantoina que probablemente afecta a nivel de absorción (15), por alcoholismo (7,30,31,34), por anticonceptivos orales (48,56,64), también en la cirrosis hepática (51), además se han reportado casos de deficiencia de las enzimas esenciales en el metabolismo del folato (2,3), en la artritis reumatoide(1), existe también la posibilidad de un defecto a nivel de membrana celular, que interfiere con la entrada del folato(41), en síndromes de mala absorción intestinal (20) y por la destrucción de la flora bacteriana intestinal (28), que es fuente de algunos derivados del folato, como son: el 5-formil- $H_4$ folato, el  $H_4$ folato y el 5-metil- $H_4$ folato y en menor cantidad el 5-formil- $H_4$ folato triglutamato (6).

#### a) ALCOHOLISMO Y CIRROSIS HEPATICA COMO CAUSAS DE DEFICIENCIA DE FOLATO

El alcoholismo es una enfermedad o intoxicación debida a la ingestión excesiva del alcohol etílico de las bebidas alcohólicas(75). La ingestión crónica de alcohol (etanol) <sup>#</sup> en grandes cantidades provoca una disminución del apetito, puesto que el alcohol proporciona calorías que sustituyen a las calorías de los nutrientes esenciales (16), un gramo de etanol proporciona aproximadamente 7.5 Kcal (70) esta situación provoca con el tiempo una anemia nutricional y consecuentemente una deficiencia de fo

# Se utilizarán indistintamente los términos alcohol, etanol y alcohol etílico.

lato (16).

Se dice que en la ingestión de alcohol se deprime la funciona lidad de la médula ósea (16), pero no se ha confirmado que la deficiencia de folato sea por la ingestión de alcohol sin que intervenga la dieta (77). Sin embargo con frecuencia los alcohó licos crónicos presentan macrocitosis y a veces megaloblastosis pero sin deficiencia de folato, lo cual conduce a pensar que el alcohol efectivamente puede tener un efecto tóxico sobre el de sarrollo eritroblástico, además cuando los alcohólicos interrump en la ingestión de alcohol, desarrollan una reticulocitosis es pontanea (16). Se ha reportado deficiencia de folatos en alcohó licos crónicos principalmente en mujeres con dietas inadecuadas o que ingieren grandes cantidades de vino y otras bebidas alco hólicas como tequila, mezcal, ron, vodka y en menor cantidad cerveza (77). En México se consumen todos estos tipos de bebi das y principalmente aguardiente, pulque y cerveza y en casos graves de alcoholismo hay ingestión de etanol puro. El alcoh o lismo en México constituye un gran problema médico y social, por lo que es importante estudiar sus consecuencias (8).

Se ha reportado en estudios con alcohólicos crónicos, que el alcohol probablemente actúa inhibiendo al folato a nivel de ab sorción intestinal, impidiendo la conversión metabólica del pte roilglutamato a 5-metil- $H_4$  folato y también en la médula ósea, a demás de afectar la desconjugación del pteroilglutamato (30). La ingestión prolongada de etanol afecta la absorción en particu lar de agua, glucosa, sodio y pteroilglutamato tritiado y se ha sugerido que la ingestión de glucosa puede mediar en parte la absorción del pteroilglutamato, por lo que se puede decir que el etanol afecta en forma indirecta la absorción del folato(31).

Como se sabe el etanol es metabolizado en el organismo produ ciendo acetaldehído y acetato. El acetaldehído se forma en el

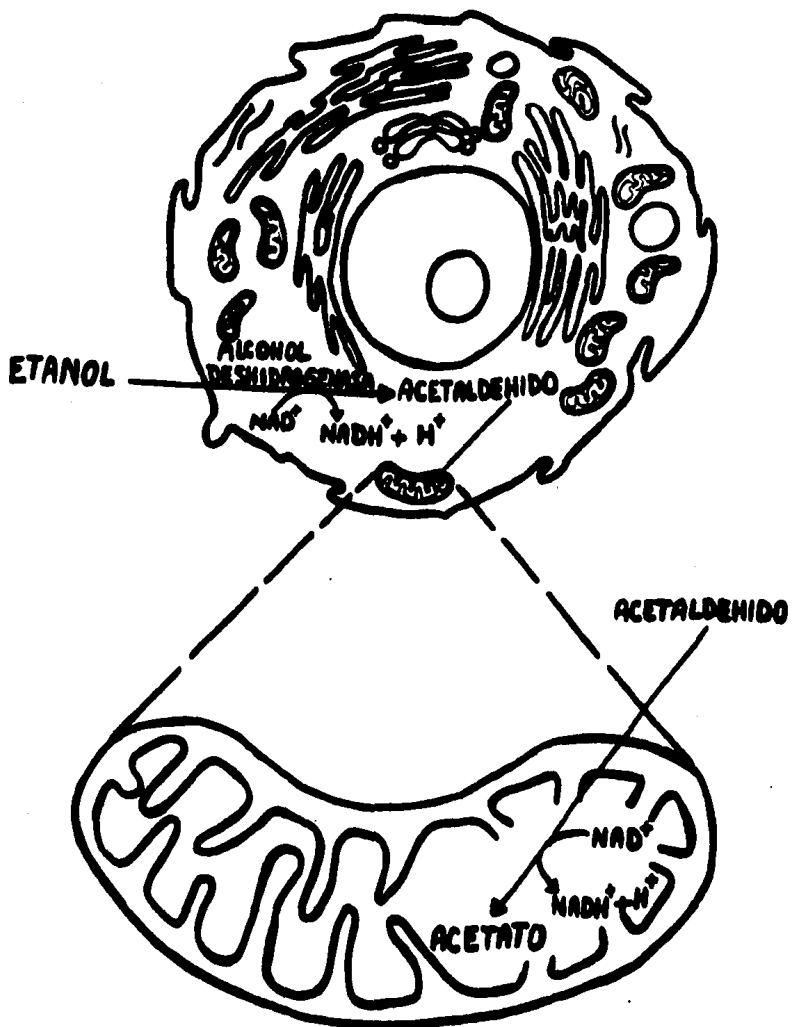
citoplasma originando una elevación de las coenzimas reducidas NADH + H y el acetato se forma por oxidación del acetaldehído dentro de la membrana interna de la mitocondria produciendo también un incremento de dichas coenzimas reducidas (Fig. 2)(23). Se ha encontrado que los metabolitos del etanol provocan una disminución de los niveles séricos de folato in vitro, mostrando de esta manera su acción inhibitoria (18).

Otras investigaciones en sujetos alcohólicos crónicos con enfermedad hepática han reportado la existencia de una incapacidad para absorber folatos, tiamina y vitamina B<sub>6</sub> de origen alimenticio(7).

Probablemente el etanol y/o sus metabolitos también inhiben el metabolismo de la piridoxina a nivel de la conversión de piridoxina a fosfato de piridoxal (34), como es sabido esta última sustancia participa en la conversión del H<sub>4</sub>folato a 5,10-metilen-H<sub>4</sub>folato (32,74) paso muy importante para la obtención de las coenzimas del folato. Además se sabe que después de la ingestión de alcohol se retrasa la síntesis de los poliglutamatos afectando de esta forma el almacenamiento del folato (5,18).

Se ha mencionado que la enzima alcohol deshidrogenasa puede inhibir la actividad del folato pero esto aún no se ha confirmado (34).

En base a esto se puede decir que los sujetos con alcoholismo crónico pueden presentar una deficiencia de folato, ya sea por el efecto inhibitorio del etanol y/o sus metabolitos o por el bajo aporte del folato en la dieta. Sin embargo en las bebidas alcohólicas más comunes se ha reportado un cierto contenido de folatos, la cerveza contiene de 7.5 a 13.6 ug/100g(33, 42,62) y el pulque por ser una bebida también producto de fermentación bacteriana, es muy posible que el contenido de folatos sea considerable puesto que se ha mencionado que contiene



**Fig 2. Metabolismo intracelular del etanol en forma esquematizada, que muestra la oxidación del etanol y del acetaldehído, produciendo alta concentración de coenzimas reducidas (23).**

vitaminas del complejo B (no se reporta el folato) (61). En otras bebidas como el vino de mesa hay un contenido aproximado de 1.2 ug/100g en el brandy, whisky, tequila y ron no hay folatos (10, 34). Esto confirma los reportes de algunos autores con respecto a que los alcohólicos que ingieren preferentemente cerveza no desarrollan deficiencia de folato (34).

El etanol es metabolizado principalmente en el hígado donde se oxida en más de un 90 por ciento. Por esta carga metabólica que recibe en casos de alcoholismo, el hígado puede sufrir enfermedades como lo es en ocasiones el hígado graso, anormalidad que es reversible cuando el paciente suspende la ingestión de alcohol y recibe una dieta nutritiva. En los alcohólicos crónicos con ingestión severa se presenta comunmente una forma de necrosis hepatocelular o de hepatitis alcohólica y al rededor del 8 por ciento de estos pacientes desarrollan una forma permanente de enfermedad hepática que es la cirrosis (68).

La cirrosis hepática se define como una enfermedad crónica y difusa del hígado, en la cual existen tres tipos de lesiones que son: necrosis, fibrosis y nódulos de regeneración, estos nódulos están formados por zonas de tejido hepático rodeadas de tejido fibroso ocasionando una afección en la vascularización y función hepáticas (21).

Como el hígado es un órgano complejo que realiza múltiples funciones en el organismo como son: el metabolismo de las proteínas, de los carbohidratos, de los lípidos, de las vitaminas; síntesis de bilirrubinas, de factores de la coagulación y de enzimas; excreción de sustancias extrañas; detoxificación y almacenamiento de diversas sustancias, entre otras funciones, y si una enfermedad lo afecta causará repercusión en todas esas funciones (16).



Se sabe que en la enfermedad hepática puede desarrollarse una deficiencia de folato y especialmente en la cirrosis asociada con alcoholismo y una dieta pobre en folato (34).

En la cirrosis hay formación de acantocitos ( glóbulos rojos anormales) que son secuestrados por el sistema reticuloendotelial para ser destruidos provocando así una hemólisis crónica (19), por otra parte se ha observado que en los alcohólicos con cirrosis puede haber deficiencia de hierro por pérdida de sangre gastrointestinal, hipoproliferación de la médula ósea, inadecuada producción de glóbulos rojos que causa comunmente anemia (19). Los pacientes con cirrosis tienden a padecer anemias de todo tipo normocrómicas, hipocrómicas y en algunos casos hiperocrómicas, que pueden agravarse por la hemólisis esplénica en la cirrosis (47). La anemia y la hemólisis de esta enfermedad a sí como la hiperplasia eritroide secundaria a la hemorragia de varices esofágicas que pueden acompañarla, causan un incremento en las demandas de folato (46).

En la cirrosis las enzimas esenciales para el metabolismo del folato pueden estar deficientes (9), en particular la formimino glutamato transferasa y las reductasas del folato (34).

En el adulto el folato se almacena principalmente en el hígado en cantidades aproximadamente de 5 a 20 mg (10). Se ha mencionado que en la disfunción hepática de todo tipo se afecta el almacén del folato y el de la vitamina  $B_{12}$  (66) y especialmente en la cirrosis hepática, existe una disminución en la capacidad de almacenaje del folato (12). Por otra parte, la ingestión de alcohol también afecta este almacén (5) ocasionando liberación del folato al torrente sanguíneo (66).

La pérdida de folato por la orina puede ser también un factor significativo en la deficiencia de folato en la cirrosis hepática, en particular cuando se ingiere una dieta pobre, ya que

en la fase activa de la hepatitis viral y en la cirrosis misma, el folato urinario está aumentado (58).

Por otro lado se podría pensar que en los cirróticos también puede haber una mala absorción intestinal que causara la deficiencia de folatos pero en un estudio al respecto se encontró que la absorción es normal, al menos en los pacientes estudiados (20).

Los informes acerca de la concentración, absorción y almacenamiento de folato en pacientes alcohólicos con y sin enfermedad hepática han sido controversiales (25,35). En estos pacientes se han encontrado deficiencias de folatos, macrocitosis y anemia megaloblástica de manera inconsistente y mal correlacionada (3,77). Sin embargo no se ha reportado una médula megaloblástica en la cirrosis no alcohólica.

#### 4 DETERMINACION DE LOS NIVELES DE FOLATOS

Para la cuantificación de los folatos en fluidos y tejidos corporales existen diversos métodos: radioisotópicos (73), cromatográficos (6) y microbiológicos (28). El método menos costoso y con menor riesgo, aunque más laborioso es el método microbiológico que emplea al Lactobacillus casei (28), aunque también se pueden emplear otros microorganismos como el Streptococcus faecalis y el Pediococcus cerevisiae (11,37). Preferentemente se emplea al Lactobacillus casei por ser el que utiliza para su crecimiento a la mayoría de los derivados del folato (Tabla 2), que se encuentran en la sangre humana (37), cuyas estructuras se pueden ver en la Tabla 3.

El Lactobacillus casei es un bacilo Gram positivo característicamente inmóvil, no formador de esporas, es aerobio y anaero-

Nombre	Símbolo	Hombre	L. casei	S. faecalis	P. cerevisiae
Dihidropteróilglutinato	H <sub>2</sub> PteGlu	+	+	+	-
Tetrahidropteróilglutinato	H <sub>4</sub> PteGlu	+	+	+	+
5-formil-tetrahidropteróilglutinato	5-HCO-H <sub>4</sub> PteGlu	+	+	+	+
10-formil-tetrahidropteróilglutinato	10-HCO-H <sub>4</sub> PteGlu	+	+	+	+
5-metil-tetrahidropteróilglutinato	5-CH <sub>3</sub> -H <sub>4</sub> PteGlu	+	+	-	-
5-formilino-tetrahidropteróilglutinato	5-CHO-H <sub>4</sub> PteGlu	+	+	+	+
5,10-metilenotetrahidropteróilglutinato	5,10-CH=H <sub>4</sub> PteGlu	+	+	+	+
5,10-metilentetrahidropteróilglutinato	5,10-CH <sub>2</sub> -H <sub>4</sub> PteGlu	+	+	+	+
Pteróilglutinato	PteGlu	+	+	+	-
10-formil-pteróilglutinato	10-HCO-PteGlu	?	+	+	-
Pteróildiglutinato	PteGlu <sub>2</sub>	+	+	+	-
Pteróiltriglutinato	PteGlu <sub>3</sub>	+	+	-	-
Pteróiltetraglutinato	PteGlu <sub>4</sub>	+	+	-	-
Pteróilpentaglutinato	PteGlu <sub>5</sub>	+	+	-	-
Pteróilhexaglutinato	PteGlu <sub>6</sub>	+	+	-	-
Pteróilheptaglutinato	PteGlu <sub>7</sub>	+	+	-	-

+ = activo

- = inactivo

± = parcialmente activo

Tabla 3. Compuestos del folato utilizados por el hombre y por algunos microorganismos (37).

bio facultativo, pero crece mejor en anaerobiosis o con un 10 por ciento de  $\text{CO}_2$ , catalasa negativo, crece mejor en la proximidad de un pH de 6, ataca a los azúcares fermentativamente, crece desde  $15^\circ$  a  $37^\circ\text{C}$  y en ocasiones hasta  $45^\circ\text{C}$  (14), para su crecimiento es esencial el folato (14).

El método microbiológico es utilizado tanto para la determinación de folato sérico como eritrocitario.

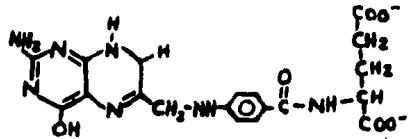
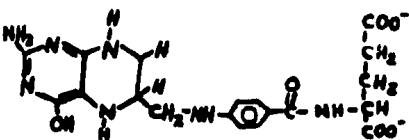
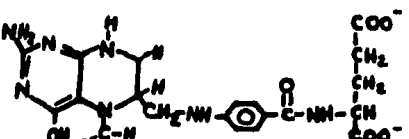
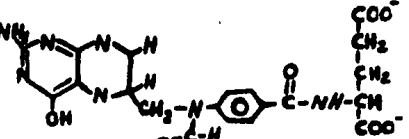
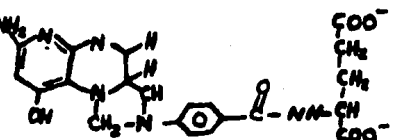
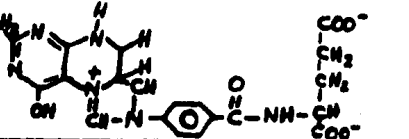
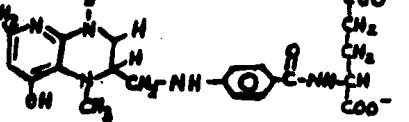
<p>NOMBRE: 7,8 DIHIDROPOLATO o 7,8 DIHIDROPTEROILGLUTAMATO</p> <p>SIMBOLO: H<sub>2</sub> folato o 7,8-H<sub>2</sub>PteGlu</p>	
<p>NOMBRE: 5,6,7,8-TETRAHIDROPOLATO o 5,6,7,8-TETRAHIDROPTEROILGLUTAMATO</p> <p>SIMBOLO: H<sub>4</sub> folato</p> <p>5,6,7,8-H<sub>4</sub>PteGlu</p>	
<p>NOMBRE: 5-FORMIL-TETRAHIDROPOLATO o 5-FORMIL-TETRAHIDROPTEROILGLUTAMATO</p> <p>SIMBOLO: 5-HCO-H folato o 5-HCO-H<sub>4</sub>PteGlu</p>	
<p>NOMBRE: 10-FORMIL-TETRAHIDROPOLATO o 10-FORMIL-TETRAHIDROPTEROILGLUTAMATO</p> <p>SIMBOLO: 10-HCO-H folato o 10-HCO-H<sub>4</sub>PteGlu</p>	
<p>NOMBRE: 5,10-METILEN-TETRAHIDROPOLATO o 5,10-METILEN-TETRAHIDROPTEROILGLUTAMATO</p> <p>SIMBOLO: 5,10-CH<sub>2</sub>-H folato o 5,10-CH<sub>2</sub>-H<sub>4</sub>PteGlu</p>	
<p>NOMBRE: 5,10-METENIL-TETRAHIDROPOLATO o 5,10-METENIL-TETRAHIDROPTEROILGLUTAMATO</p> <p>SIMBOLO: 5,10-CH=N-H folato o 5,10-CH=N-H<sub>4</sub>PteGlu</p>	
<p>NOMBRE: 5-METIL-TETRAHIDROPOLATO o 5-METIL-TETRAHIDROPTEROILGLUTAMATO</p> <p>SIMBOLO: 5-CH<sub>3</sub>-H folato o 5-CH<sub>3</sub>-H<sub>4</sub>PteGlu</p>	

Tabla 3 Compuestos importantes de la familia del folato (32,37)

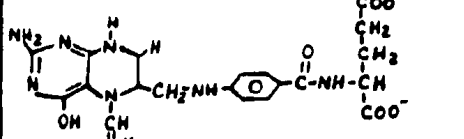
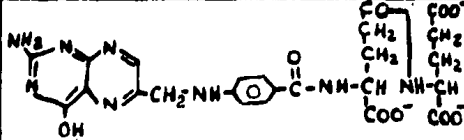
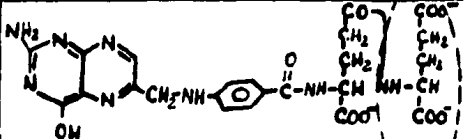
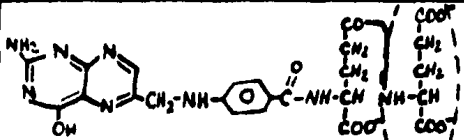
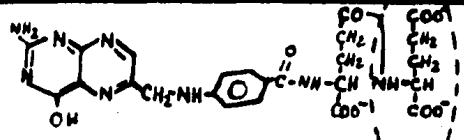
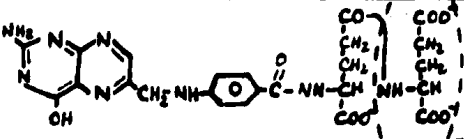
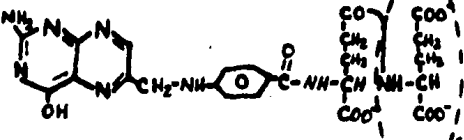
<p><b>NOMBRE:</b> 5-FORMIMINO-TETRAHIDROPOLATO o 5-FORMIMINO-TETRAHIDROPTEROILGLUTAMATO</p> <p><b>SÍMBOLO:</b> 5-CH=NH-H<sub>4</sub> folato o 5-CH=NH-H<sub>4</sub> PteGlu</p>	
<p><b>NOMBRE:</b> PTEROILDIGLUTAMATO</p> <p><b>SÍMBOLO:</b> PteGlu<sub>2</sub></p>	
<p><b>NOMBRE:</b> PTEROILTRIGLUTAMATO</p> <p><b>SÍMBOLO:</b> PteGlu<sub>3</sub></p>	
<p><b>NOMBRE:</b> PTEROILTETRAGLUTAMATO</p> <p><b>SÍMBOLO:</b> PteGlu<sub>4</sub></p>	
<p><b>NOMBRE:</b> PTEROILPENTAGLUTAMATO</p> <p><b>SÍMBOLO:</b> PteGlu<sub>5</sub></p>	
<p><b>NOMBRE:</b> PTEROILHEXAGLUTAMATO</p> <p><b>SÍMBOLO:</b> PteGlu<sub>6</sub></p>	
<p><b>NOMBRE:</b> PTEROILHEPTAGLUTAMATO</p> <p><b>SÍMBOLO:</b> PteGlu<sub>7</sub></p>	

Tabla 3 (continuación) compuestos importantes de la familia del folato (32,37).

### III H I P O T E S I S

a) Los valores de folato sérico y eritrocitario en los diferentes reportes muestran gran variabilidad (aún utilizando la misma técnica microbiológica) (11), por lo que es de esperarse que para una población de México sean también diferentes siendo necesario establecer los valores normales.

b) El etanol y/o sus metabolitos pueden tener un efecto inhibitorio sobre la absorción y el metabolismo del folato (5,30,31) si a esto agregamos las deficiencias nutricionales que pueden acompañar al alcoholismo (16,33,42,75) es de esperarse que los niveles de folato sérico y eritrocitario estén disminuídos en los sujetos con alcoholismo crónico.

c) El hígado es un sitio muy importante para la transformación metabólica y por lo tanto para la utilización de los folatos (32,74), en una alteración de sus funciones como es la cirrosis, la utilización de estos se encuentra afectada ( a nivel de conversiones de reducción y almacén) (9,12,34,66) y tal vez encontraremos niveles de folato sérico y eritrocitario disminuídos en los pacientes con cirrosis.

d) En la cirrosis por alcohol los niveles de folato sérico y eritrocitario probablemente estén aún más disminuídos, puesto que actúan dos factores, el efecto del etanol (5,30,31) y la cirrosis misma ( 9,12,34,66).

e) Puesto que el pulque es una bebida de consumo predominante en los sujetos alcohólicos con y sin cirrosis hepática, de nuestro medio y se sabe que tiene un gran contenido de folato además de otras vitaminas del complejo B (6) probablemente su ingestión contribuya a que no se presente una deficiencia significativa de folatos en estos sujetos.



## IV MATERIAL Y METODOS

### 1 SUJETOS NORMALES

Se estudiaron sujetos adultos mayores de 18 años mexicanos, de ambos sexos aparentemente sanos para determinar el valor normal de folato sérico y eritrocitario. Puesto que el objetivo es determinar los valores normales en estos sujetos es necesario comprobar que sean sanos, para lo cual deberán reunir las siguientes características: una dieta en general adecuada; clínicamente sanos; sin enfermedades agudas en los últimos 30 días; sin anemia, con hemoglobina mayor de 14 g/100 ml en hombres y de 13 g/100 ml en mujeres; con citología hemática normal; con glucosa, urea, creatinina, transeminasa glutámico pirúvica, transaminasa glutámico oxalacética, fosfatasa alcalina y bilirrubinas, normales; sin embarazo ni ingestión de anticonceptivos (Tablas 4,5 y 6).

### 2 PACIENTES

GRUPO 1: Se estudió a un grupo de pacientes con cirrosis hepática de origen alcohólico, determinada por criterios clínicos, bioquímicos e histológicos, con historia de alcoholismo crónico definida por el consumo diario de alcohol etílico equivalente a 80 g o más, por un período mayor de dos años. Considerando que 80 g de etanol equivalen aproximadamente a:

- 4 cervezas
- 1 botella de vino de mesa

- 250 ml de bebidas fuertes

- 1000 ml de pulque

Además de no haber presentado hemorragia en las últimas cuatro semanas, sin consumo de medicamentos a dosis terapéuticas por más de tres semanas en los últimos tres meses, con consumo de una dieta en contenido normal de folatos, sin embarazo, ni ingestión de anticonceptivos.

**GRUPO 2:** En este grupo se estudiaron sujetos con cirrosis hepática de etiología no alcohólica, determinada por criterios clínicos, bioquímicos e histológicos, sin historia de hemorragia en las últimas cuatro semanas, sin historia de alcoholismo crónico, sin consumo de medicamentos en dosis terapéuticas por más de tres semanas en los últimos tres meses. Con consumo de una dieta de contenido normal de folatos, sin embarazo ni ingestión de anticonceptivos.

**GRUPO 3:** En este último grupo se estudiaron individuos con historia de alcoholismo crónico sin enfermedad hepática, ni enfermedad aguda o crónica, sin historia de hemorragia en las últimas cuatro semanas, sin consumo de medicamentos en dosis terapéuticas por más de tres semanas en los últimos tres meses, sin embarazo, ni ingestión de anticonceptivos.

En estos pacientes el alcoholismo crónico se determinó con los mismos criterios usados para el grupo 1.

A todos los sujetos tanto normales como los pacientes se les tomaron muestras para los exámenes básicos además se les tomó una muestra de 10 ml de sangre, de los cuales 7 ml se colocaron en un tubo libre de hierro sin anticoagulante para obtener la muestra de suero y 3 ml en un tubo libre de hierro con anticoagulante (EDTA), para la muestra de sangre completa.

### 3 METODO MICROBIOLOGICO PARA LA DETERMINACION DE FOLATOS

El método microbiológico empleado para la determinación de folatos se basa en el crecimiento del Lactobacillus casei, en función de la concentración de folato en el material biológico ya sea suero (69) ó eritrocitos (38). Para la determinación de folato eritrocitario, se realiza primero la cuantificación en sangre completa y después se calcula para eritrocitos, utilizando el valor de folato sérico y el hematocrito correspondiente.

A las muestras biológicas ( suero y sangre completa) se les aplica un proceso de desproteínización para obtener un extracto claro con el folato libre. Este proceso consiste en la aplicación de calor a pH ligeramente ácido de 6.1, puesto que valores más bajos inhiben la coagulación de las proteínas (69), este método se comprobó y los resultados obtenidos fueron los siguientes: para el suero la desproteínización fué de un 98 por ciento y para la muestra de sangre hemolizada fué de 98.8 por ciento.

Una vez obtenido el extracto se mezcla con un medio de cultivo libre de folatos ( medio de ensayo) y se inocula con el L. casei, previamente lavado y resuspendido con medio de ensayo diluido.

La actividad del folato en el material biológico se debe principalmente al derivado 5-metil- $H_4$  folato (28), compuesto microbiológicamente activo para el L. casei pero no para el S. faecalis (28), ni para el P. cerevisiae (37). Se prefiere utilizar al L. casei, puesto que posee una gran habilidad para utilizar los poliglutamatos (6), se sabe que puede emplear poliglutamatos de siete y hasta diez residuos de glutamato (37) y además porque puede emplear la mayor parte de los derivados del

folato, que se encuentran en la sangre (37).

Para el desarrollo de este método se dispuso de una cepa pura de L. casei liofilizada, proporcionada por el laboratorio de hematología especial del Hospital General del Centro Médico la Raza, donde se realizó este trabajo.

El liofilizado fué reconstituido con medio líquido de mantenimiento ( Lactobacilli Broth AOAC-Difco 0901-15-3) incubándose después a 37°C por 24 horas. A partir de este cultivo se resiem bra cada 15 días en medio de cultivo sólido que sirve para el mantenimiento ( Lactobacilli Agar-AOAC-Difco 900-15 ) en condiciones estériles y se incuba a 37°C por 24 horas.

Para el ensayo se utiliza un cultivo reciente de 24 horas. Los cultivos pueden conservarse a 4°C por un tiempo aproximado de 2 años.

La preparación de la curva estandar es como sigue:

TUBOS	1	2	3	4	5	6	7	So.	Mta. Prob.
Medio de ensayo(ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Agua desmineralizada (ml)	2	1.9	1.8	1.6	1.2	1.0	0.4	2	-
Solución de folatos (ng/ml) (ml)	0	0.1	0.2	0.4	0.8	1.0	1.6	-	-
Extracto diluido (ml)	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Los tubos se tapan con algodón y se esterilizan (a 15lbx 5%)									
Inóculo (gotas)	1	1	1	1	1	1	1	-	1

La curva estandar, lo mismo que las muestra problema se preparan por duplicado y como blanco se utiliza en vez de extracto agua demineralizada, excepto cuando los extractos no son claros

La inculación se hace en condiciones estériles, después se agitan los tubos perfectamente y se incuban a 37°C por 18 a 22 horas.

La turbidez debida al desarrollo del bacilo se mide en un espectrofotómetro CARL ZEISS FMQ II a 660 nm. Se ajusta a 100 por ciento de transmitancia y a cero de absorbancia con el blanco.

A las lecturas de los tubos 2 al 7 se les resta la lectura del tubo 1, el cual funciona como blanco del inóculo. Las lecturas de transmitancia se convierten a absorbancia y se grafican contra la concentración de folatos del estandar, en papel semi-logarítmico para obtener la curva estandar (Fig. 3).

Las lecturas de absorbancia de los problemas, a las cuales también se les resta la lectura del tubo 1, se interpolan en la curva estandar para conocer su concentración de folatos y se multiplica por el factor de dilución que es igual a 20 para el suero y de 500 para el hemolizado de la sangre completa.

Para el cálculo del folato eritrocitario se utiliza la siguiente fórmula:

$$\text{Folato eritrocitario} = \frac{\text{conc.de folato en sangre completa} - (\text{Folato sérico} (1 - \frac{\text{Hto.}}{100}))}{\frac{\text{Hto.}}{100}}$$

Absorbancia

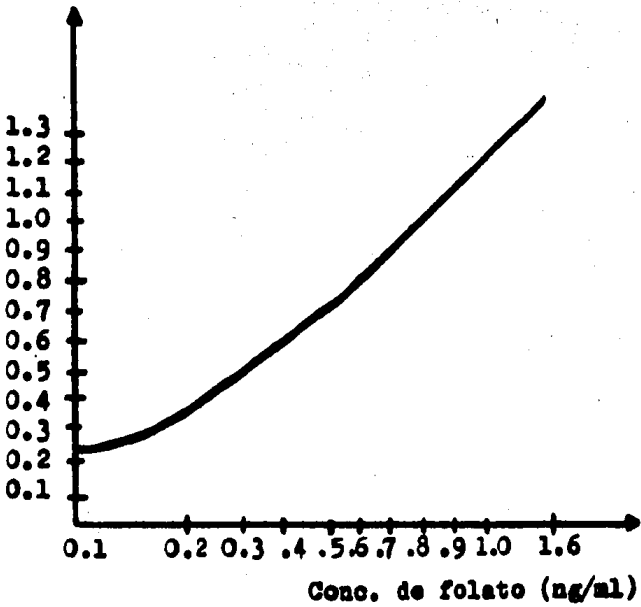


Fig.3. Curva de crecimiento típico del Lacto-  
bacillus casei para el ensayo microbio-  
lógico del folato.

## V R E S U L T A D O S

### 1 VALORES NORMALES

Los sujetos estudiados para la determinación de los valores normales de folato según las pruebas de laboratorio realizadas, son sanos ( Tablas 4,5 y 6 ).

La población estudiada consistió de 101 sujetos para el folato sérico, 56 hombres y 45 mujeres (edad promedio de 40 años). Para el folato eritrocitario se utilizaron 82 sujetos, 46 hombres y 36 mujeres ( edad promedio de 42 años). El rango de edades en todos los sujetos fué de 18 a 82 años.

Los valores obtenidos de folato sérico y eritrocitario en estos sujetos fueron: ( Fig. 4 y 5 )

En suero para hombres:  $9.02 \pm 4.26$  ng/ml

En suero para mujeres:  $9.15 \pm 3.50$  ng/ml

En eritrocitos para hombres :  $331.9 \pm 152.1$  ng/ml

En eritrocitos para mujeres:  $310.9 \pm 158.6$  ng/ml.

En promedio para el folato sérico fué de  $9.08 \pm 3.94$  ng/ml y para el eritrocitario fué de  $322.4 \pm 155.4$  ng/ml, cuyos intervalos son de 5 a 13 ng/ml y de 167 a 478 ng/ml respectivamente.

Para el análisis estadístico se aplicó la prueba t de Student y la prueba de distribución  $\chi^2$ , buscando alguna diferencia significativa entre los valores para hombres y los valores para mujeres, así como entre los sujetos menores y mayores de 50 años, con el fin de encontrar alguna relación de estos niveles con respecto a la edad y sexo (Fig. 6 y 7).

De este análisis no se obtuvieron diferencias significativas entre los valores de folato, ni por edad ni por sexo (Tablas 7

	HOMBRES $\bar{X} \pm D.E.$	MUJERES $\bar{X} \pm D.E.$
GLUCOSA (mg%)	87.0 $\pm$ 8.03	80.0 $\pm$ 7.64
CREATININA(mg%)	1.0 $\pm$ 0.218	0.938 $\pm$ 0.131
UREA ( mg% )	29.8 $\pm$ 6.11	25 $\pm$ 5.46
número de sujetos	55	46

Valores normales:

Glucosa = 60-100 mg% (Método de ortotoluidina)<sup>#</sup>

Creatinina = 0.75-1.2 mg% (Método de Vaffé)<sup>#</sup>

Urea = 16-35 mg% (Método enzimático)<sup>#</sup>

<sup>#</sup> Métodos automatizados

Tabla 4. Resultados de la química sanguínea en los sujetos normales.



	HOMBRES $\bar{X} \pm D.E.$	MUJERES $\bar{X} \pm D.E.$
TGO (U/ml)	20.1 $\pm$ 6.1	19.08 $\pm$ 4.65
TGP (U/ml)	18.6 $\pm$ 9.18	15.27 $\pm$ 4.1
F.A. (U/ml)	99.7 $\pm$ 27.7	98.23 $\pm$ 14.6
B.D. (mg %)	0.163 $\pm$ 0.123	0.152 $\pm$ 0.08
B.I. (mg %)	0.221 $\pm$ 0.138	0.202 $\pm$ 0.121
COLESTE- ROL(mg%)	190.95 $\pm$ 99.9	189.41 $\pm$ 7.17
número de sujetos	55	46

**Valores Normales:**

TGO (Transaminasa glutámico oxalacética) = 8-40 U/ml

TGP (Transaminasa glutámico pirúvica) = 5-35 U/ml

F.A. (Fosfatasa alcalina) = 80-306 U/ml en hombres

64-306 U/ml en mujeres

B.D. (Bilirrubina directa) = hasta 0.3 mg %

B.I. (Bilirrubina indirecta) = hasta 0.8 mg %

COLESTEROL = 170-285 mg %

## Métodos colorimétricos automatizados

**Tabla 5. Resultados de las pruebas de funcionamiento hepático en los sujetos normales.**

	HOMBRES $\bar{X} \pm D.E.$	MUJERES $\bar{X} \pm D.E.$
Hb ( g % )	15.1 $\pm$ 0.98	13.85 $\pm$ 0.86
Hto ( % )	47.0 $\pm$ 3.38	43.3 $\pm$ 2.72
CMHb ( % )	32.0 $\pm$ 0.88	31.93 $\pm$ 0.95
VGM ( $\mu^3$ )	93.5 $\pm$ 5.4	90.07 $\pm$ 5.92
GLOBULOS BLANCOS/ $mm^3$	6747 $\pm$ 1306	6381 $\pm$ 1170
MORFOLOGIA	NORMAL	NORMAL
número de sujetos	55	46

**Valores normales:**

Hb. (Hemoglobina) = 15 - 20 g% en hombres y 13 - 17 g% en mujeres (Método de la cianometahemoglobina)

Hto. (Hematocrito) = 40-54 % en hombres y 38-47 % en mujeres (Micrométodo de Wintrobe)

CMHb (Concentración corpuscular media de hemoglobina) = 30-33%

VGM (Volumen globular medio) = 83-104  $\mu^3$

Glóbulos blancos = 5,000 - 10,000/ $mm^3$  (Método hemacitómetrico)

**Tabla 6. Resultados de la biometría hemática en los sujetos normales.**

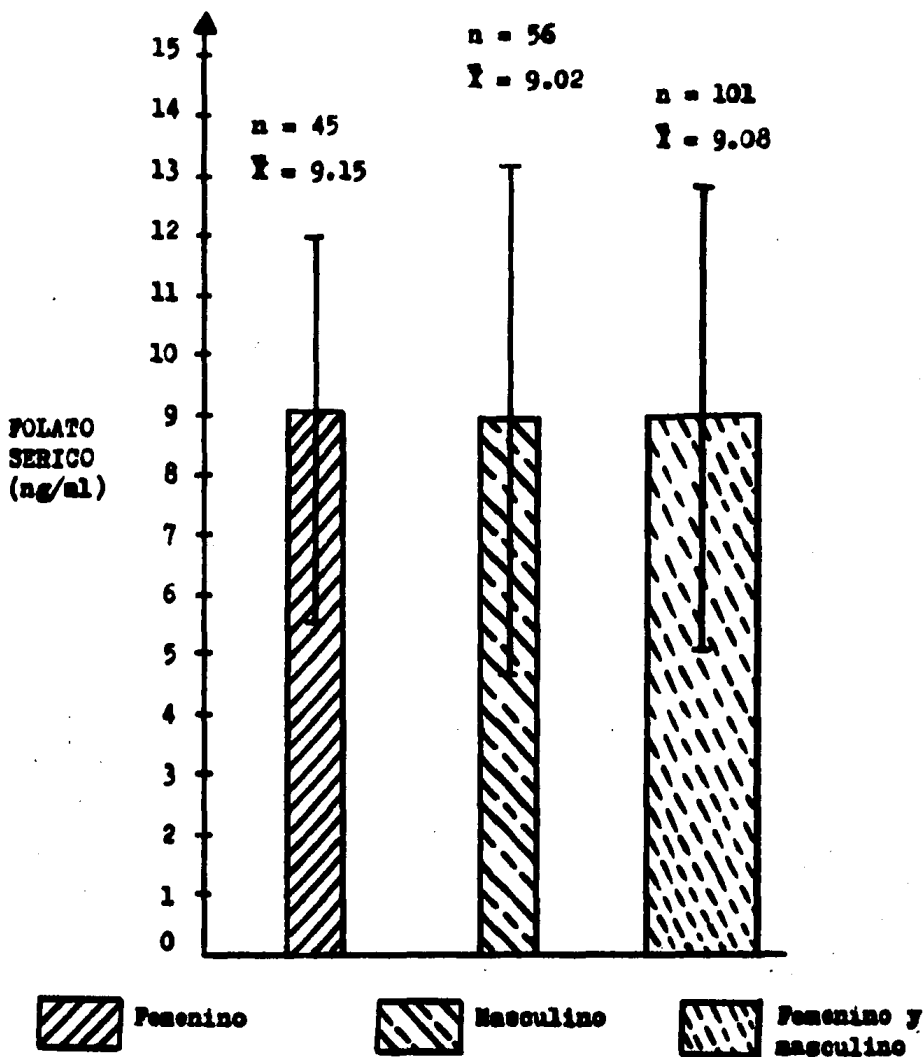


Fig.4. Folato sérico en sujetos normales, agrupados por sexo. Con una diferencia no significativa entre el sexo femenino y masculino.

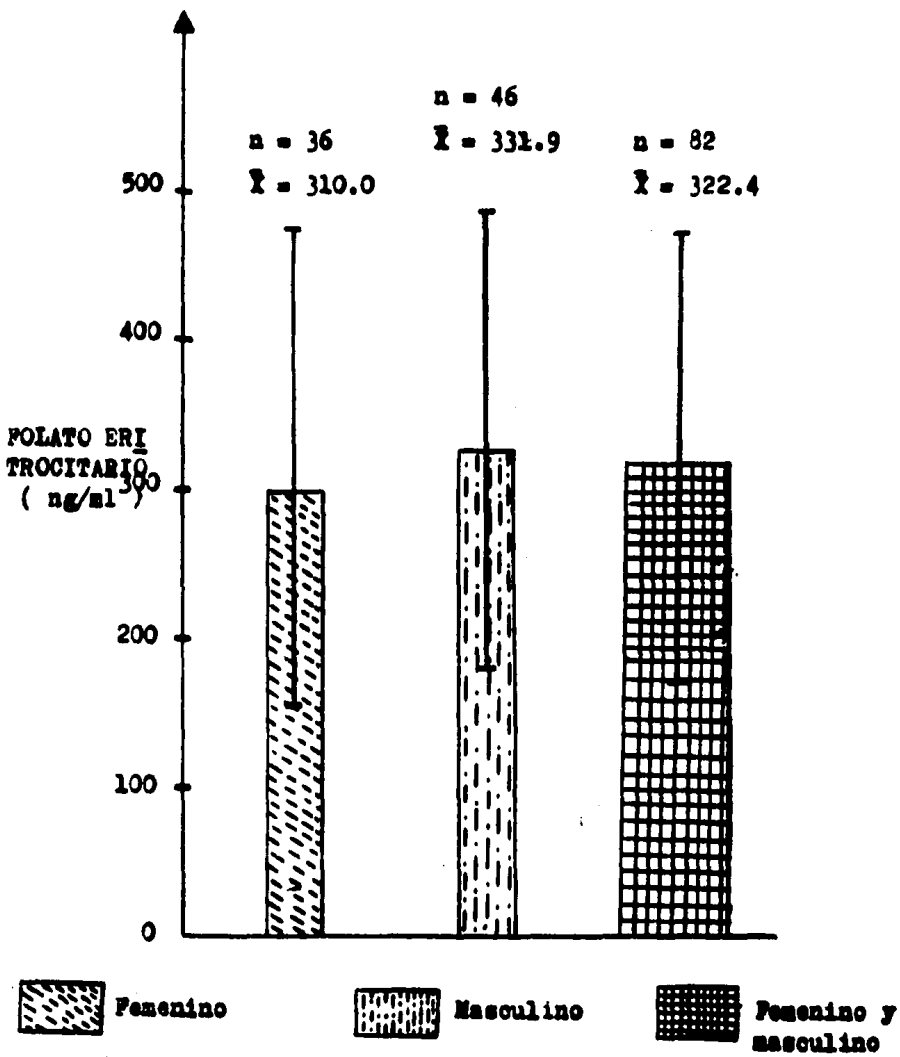


Fig. 5. Folato eritrocitario en los sujetos normales. Con una diferencia no significativa entre el sexo masculino y femenino.

FOLATO SÉRICO ( M F ) \*

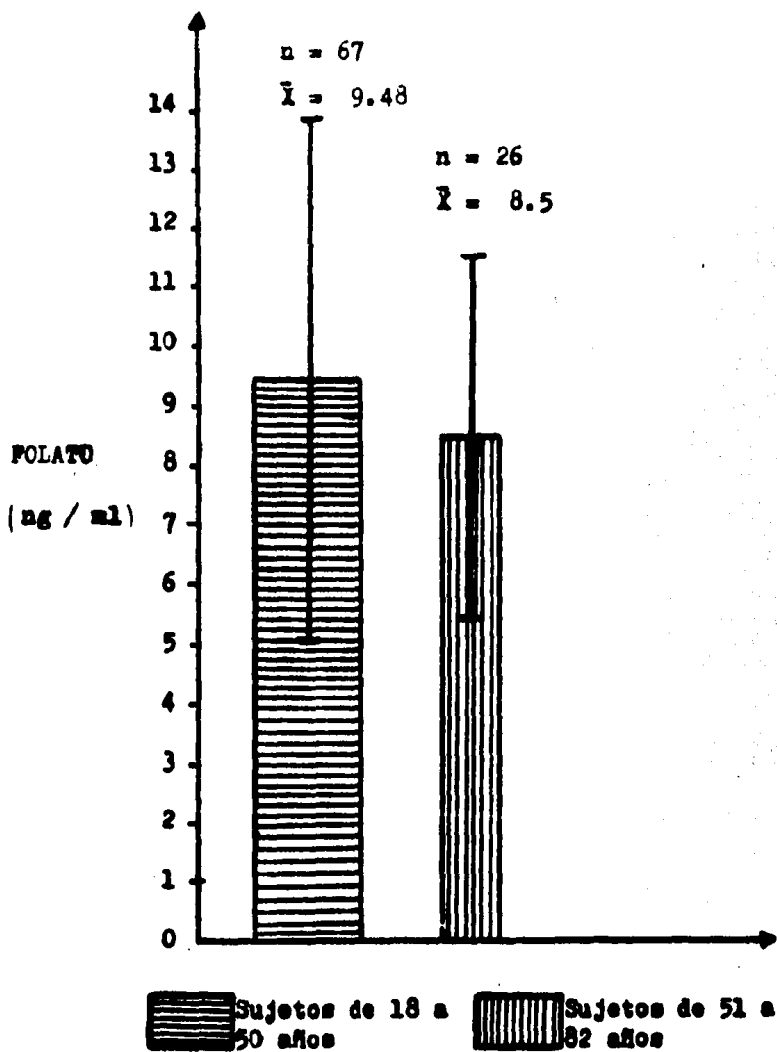


Fig.6 Folato sérico en los sujetos normales.  
Agrupados por edad con una diferencia no significativa.

\* Masculino y Femenino

FOLATO ERITROCITARIO ( M F )\*

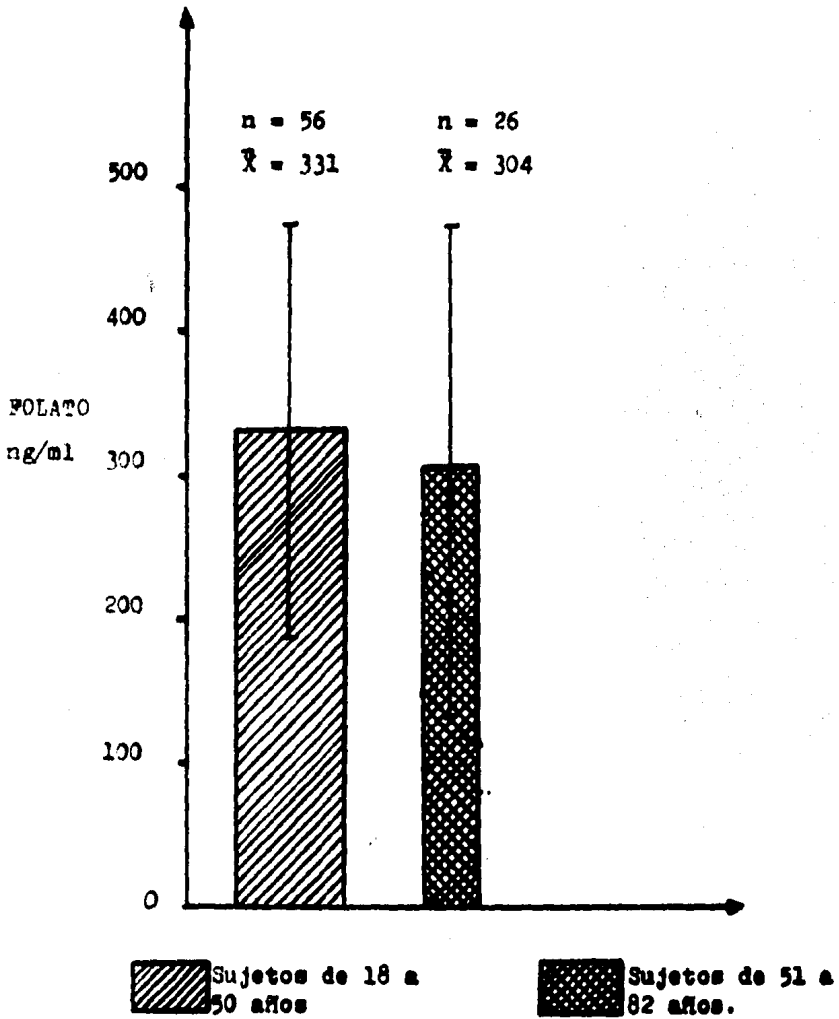


Fig. 7 Folato eritrocitario en los sujetos normales. Agrupados por edad con una diferencia no significativa.

\* Masculino y Femenino

y 8 ) Utilizando la distribución z se encontró que un 68.2 por ciento de los valores obtenidos caen dentro de los límites comprendidos entre la media  $\pm$  una desviación estandar.

Se determinó la correlación entre los niveles de folato sérico y los niveles de folato eritrocitario, para encontrar alguna relación entre el folato circulante y el de almacén en eritrocitos, en los sujetos normales se obtuvo un coeficiente de correlación (r) de 0.3639, el cual nos demuestra una mala corelación entre ambos niveles ( Fig. 8 y Tabla 12).

## 2 NIVELES DE FOLATOS EN LOS PACIENTES

GRUPO 1 : Este grupo consistió de 20 pacientes, 17 hombres y 3 mujeres, de edades entre 28 y 56 años ( con un valor promedio de 48 años), con antecedentes de alcoholismo crónico por un período de 20 a 49 años, de nivel socioeconómico en general medio y con una alimentación en general adecuada. Todos los sujetos padecían de cirrosis hepática por alcoholismo, la cual fué confirmada en el 100 por ciento de ellos por medio de biopsia, además de los criterios clínicos y del laboratorio.

Los niveles de folato obtenidos fueron (Tabla 9):

Para suero:  $7.91 \pm 3.9$  ng/ml

Para eritrocitos:  $364.1 \pm 161.1$  ng/ml.

GRUPO 2 : Este grupo estuvo formado por 5 pacientes adultos, del sexo femenino, de edades entre 27 y 53 años (con un valor promedio de 45 años), presentaron cirrosis hepática de etiología no alcohólica, confirmada por biopsia en el 100 por ciento de los casos, de nivel socioeconómico en general medio, sin antecedentes de alcoholismo y con una alimentación en general adecuada.

Los niveles de folato obtenidos en este grupo, fueron (Tabla 9):

	MASCULINO	FEMENINO	PRUEBA t DE STUDENT		DISTRIBUCION Z	
	$\bar{X} \pm$ D.E.	$\bar{X} \pm$ D.E.	Intervalo de aceptación	P	Intervalo de aceptación	P
FOLATO SERICO ng/ml	9.02 $\pm$ 4.26 n = 56	9.15 $\pm$ 3.50 n = 45	-1.984 $\leq$ t $\leq$ 1.984 t = - 0.163 obt	N.S.	-1.96 $\leq$ Z $\leq$ 1.96 Z = -0.218 obt	N.S.
FOLATO ERITROCITARIO ng/ml	331.9 $\pm$ 152.1 n = 46	310.0 $\pm$ 158.6 n = 36	-1.99 $\leq$ t $\leq$ 1.99 t = 0.625 obt	N.S.	-1.96 $\leq$ Z $\leq$ 1.96 Z = 0.63 obt	N.S.

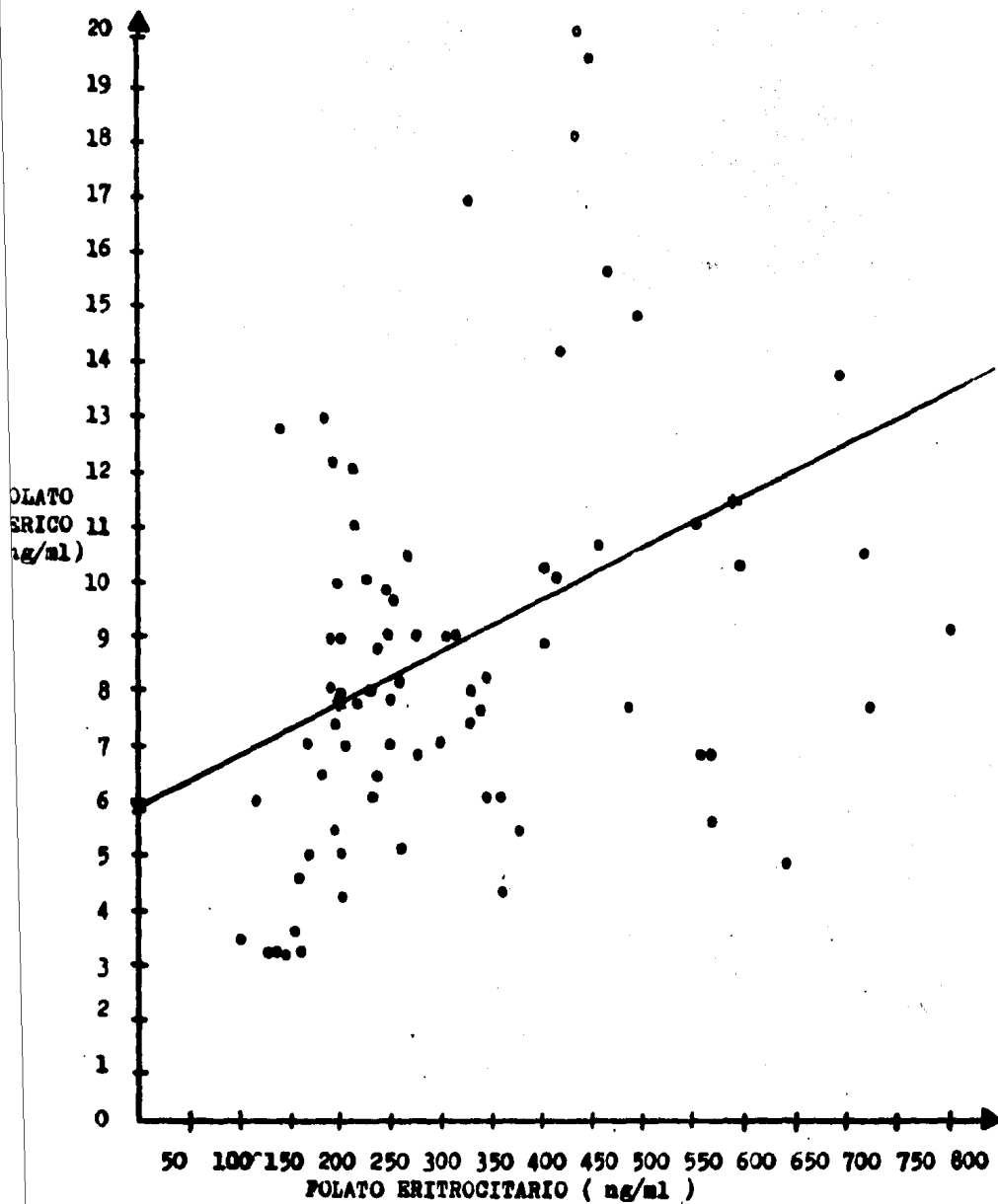
El valor de t obtenido se indica como t<sub>obt</sub>; el valor de Z obtenido se indica como Z<sub>obt</sub>; N.S. = no significativo y n = número de sujetos estudiados.

Tabla 7. Comparación por sexo de los niveles normales de folato sérico y eritrocitario.



DISTRIBUCION 2	
Intervalo de clasificación	P
$1.96 \leq z < 2$  1.21	N.S.
$1.96 \leq z < 2$  0.688	N.S.

sérico y cri-



**Fig.8** Correlación entre los niveles de folato sérico y eritrocitario de los sujetos normales,  $r = 0.364$ ,  $n = 0.009$ ,  $n = 82$ .

Para suero:  $13.4 \pm 4.8$  ng/ml

Para eritrocitos:  $447.2 \pm 301.7$  ng/ml

**GRUPO 3 :** Este grupo estuvo integrado por 13 pacientes, 12 hombres y una mujer de edades entre 27 y 60 años ( con una valor promedio de 41 años), con historia de alcoholismo crónico por un período 5 a 40 años, sin enfermedad hepática, de un nivel socioeconómico en general medio bajo y una alimentación en general inadecuada.

Los niveles de folato en este grupo fueron (Tabla 9):

Para suero:  $5.72 \pm 2.8$  ng/ml

Para eritrocitos:  $247.7 \pm 84.5$  ng/ml.

### 3 COMPARACION DE LOS NIVELES DE FOLATOS ENTRE LOS PACIENTES Y LOS SUJETOS NORMALES.(Fig 9 y 10)

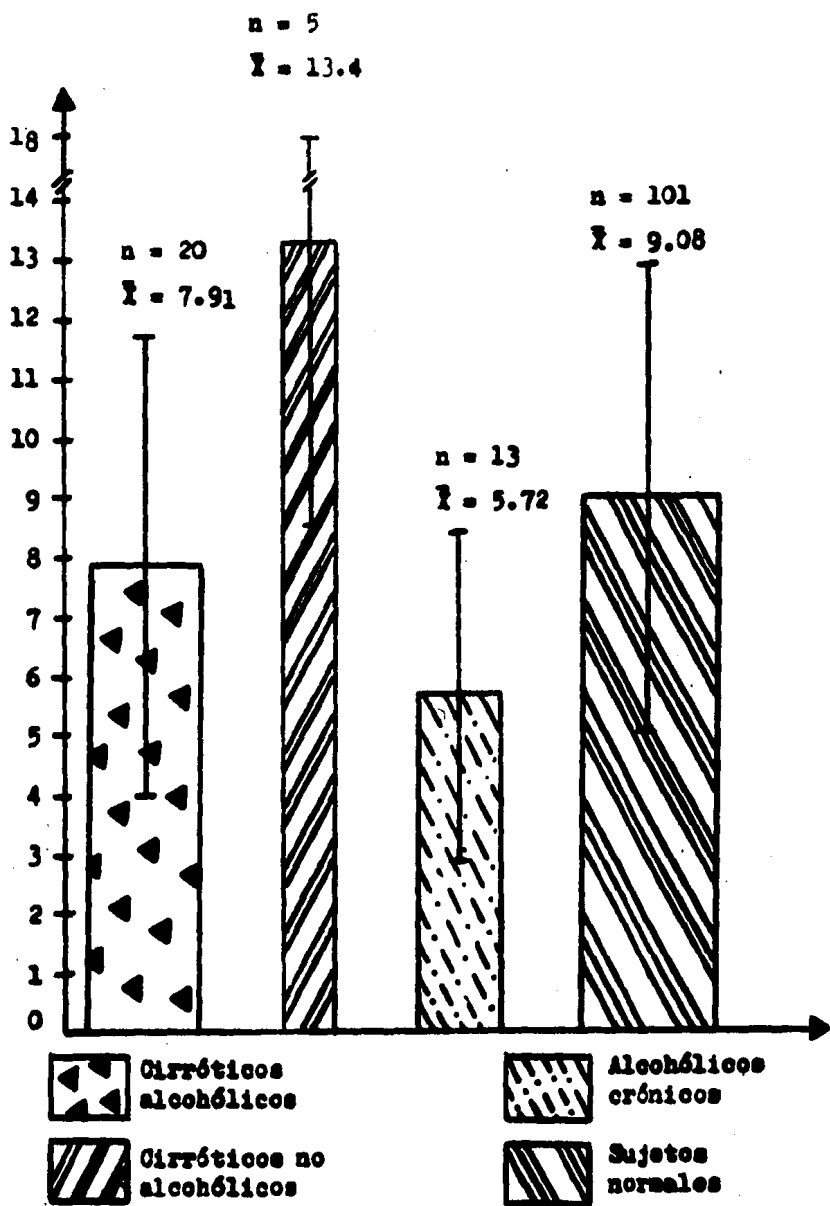
Al comparar los valores de folato del grupo 1 con los valores de los sujetos normales, se observó que con respecto al folato sérico, mediante la prueba t de Student y el análisis de varianza, no hubo diferencia significativa entre ambos valores. Por otro lado para el folato eritrocitario se encontró también una diferencia no significativa con una p mayor de 0.05 (Tabla 10a).

En el caso de los valores del grupo 2 comparados con los valores normales y aplicando las mismas pruebas estadísticas, podemos ver que entre los valores de folato sérico existe una diferencia significativa con una p menor de 0.05, utilizando la prueba t de Student, sin embargo con el análisis de varianza no hubo tal diferencia significativa con una p mayor de 0.05(Tabla 10b).Para el folato eritrocitario no hay diferencias.

Por último se compararon los valores del grupo 3 con los normales, encontrándose que para el folato sérico con la prueba t

	número de sujetos	FOLATO SERI- CO ng/ml $\bar{X} \pm D.E.$	número de sujetos	FOLATO ERITRO- CITARIO ng/ml $\bar{Y} \pm D.E.$
GRUPO 1	20	7.91 $\pm$ 3.92	19	364.1 $\pm$ 161.1
GRUPO 2	5	13.40 $\pm$ 4.80	5	447.2 $\pm$ 301.7
GRUPO 3	13	5.72 $\pm$ 2.80	13	247.7 $\pm$ 84.50
SUJETOS NORMALES	101	9.08 $\pm$ 3.94	82	322.4 $\pm$ 155.4

Tabla 9. Niveles de folato sérico y eritrocitario en su-  
jetos normales y en los diferentes grupos de  
pacientes estudiados.



**Fig.9** Folato sérico en los grupos de pacientes estudiados y en los sujetos normales

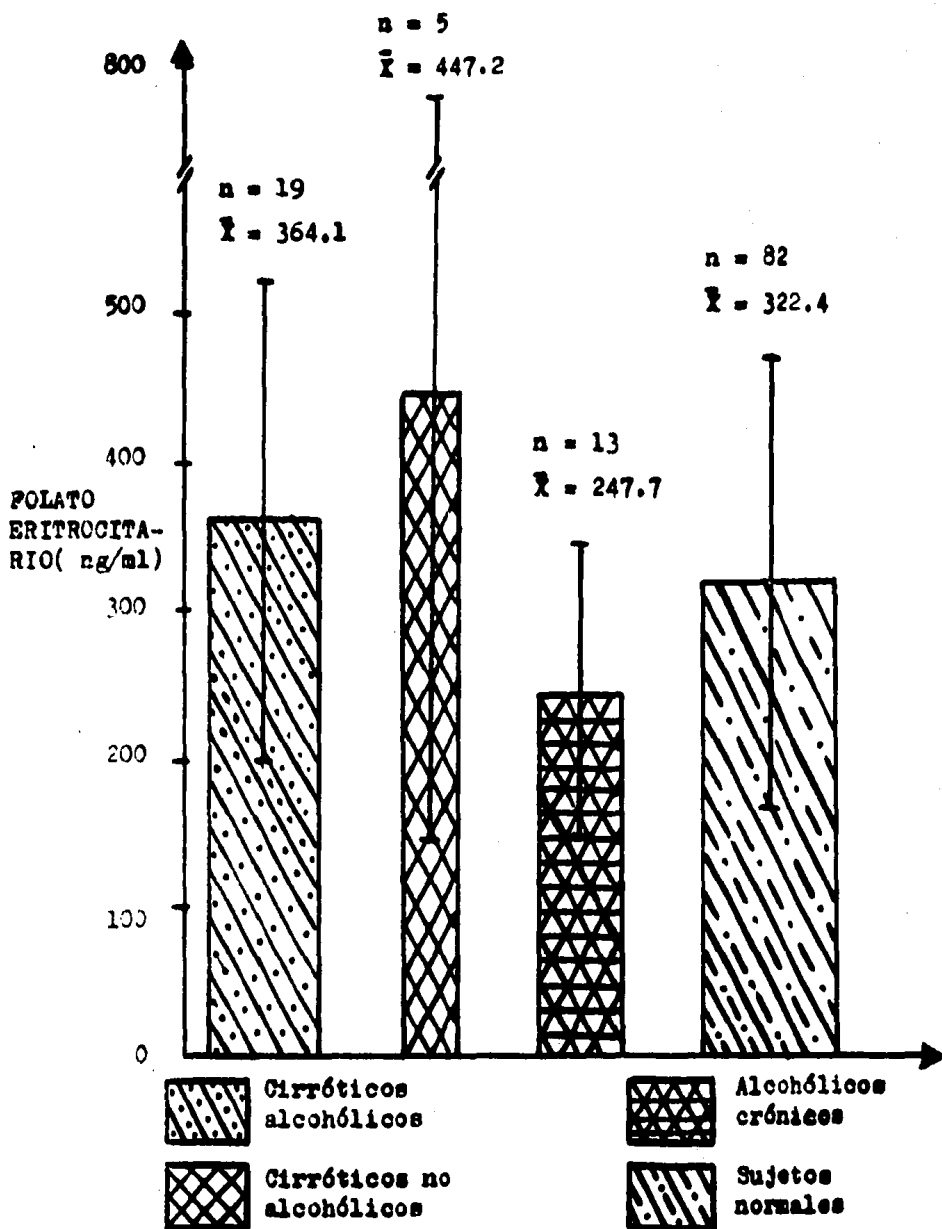


Fig. 10. Folato eritrocitario en los grupos de pacientes estudiados y en los sujetos normales.

de Student y el análisis de varianza existe una diferencia significativa con una p menor de 0.05. Sin embargo para el folato eritrocitario no se aprecia diferencia significativa al aplicar la prueba t, no obstante al hacer el análisis de varianza si se encontró diferencia significativa (Tabla 10c).

#### 4 COMPARACION DE LOS NIVELES DE FOLATOS ENTRE LOS GRUPOS DE PACIENTES.

Se encontró que la media del folato sérico en el grupo 1 fué de  $7.91 \pm 3.9$  ng/ml, mientras que para el grupo 2 fué de  $13.4 \pm 4.8$  ng/ml, se puede ver que existe una cierta diferencia entre ambos valores, pero al aplicar las pruebas estadísticas t de Student y análisis de varianza se encontró que la diferencia es significativa con la primera, mientras que con la segunda prueba no hay tal diferencia. Con respecto al folato eritrocitario entre el grupo 1 y el grupo 2 mediante las mismas pruebas estadísticas se encontró una diferencia no significativa con una p mayor de 0.05 (Tabla 11a).

Por otra parte al comparar los valores de folato sérico del grupo 1 y del grupo 3, se puede apreciar que existe cierta diferencia entre ambos valores (Tabla 11b), pero aplicando las pruebas estadísticas la diferencia no fué significativa, con una p mayor de 0.05.

Para los valores de folato eritrocitario entre el grupo 1 y el grupo 3, con ambas pruebas estadísticas se encontró una diferencia significativa con una p menor de 0.05 (Tabla 11b).

Por último se compararon los valores de folato del grupo 2 con los del grupo 3 y mediante la prueba t de Student se encontró que tanto para el folato sérico como el eritrocitario las diferencias fueron significativas, con una p menor de 0.05. Sin

(a)	NORMAL	GRUPO 1	PRUEBA t DE STUDENT		A. DE VARIANZA			
			$\bar{X}$	$\bar{X}$	Intervalo de aceptación	p	F aceptable	p
ng/ml								
FOLATO SERICO	9.08	7.91	-1.9794 ± 1.979	N.S.	F < 1.68 δ <sub>95</sub> 1.02	N.S.		
FOLATO ERITROCITARIO	322.4	364.1	-1.984 ± 1.98	N.S.	F < 1.98 δ <sub>95</sub> 1.07	N.S.		

(b)	NORMAL	GRUPO 2	PRUEBA t DE STUDENT		A. DE VARIANZA		
			$\bar{X}$	$\bar{X}$	Intervalo de aceptación	p	F aceptable
ng/ml							
FOLATO SERICO	9.08	13.4	-1.984 ± 1.984	S.S.	F < 5.66 δ <sub>95</sub> 1.51	N.S.	
FOLATO ERITROCITARIO	322.4	417.2	-1.994 ± 1.99	N.S.	F < 5.66 δ <sub>95</sub> 3.76	N.S.	

(c)	NORMAL	GRUPO 3	PRUEBA t DE STUDENT		A. DE VARIANZA		
			$\bar{X}$	$\bar{X}$	Intervalo de aceptación	p	F aceptable
ng/ml							
FOLATO SERICO	9.08	5.72	-1.984 ± 1.98	S.S.	F < 1.85 δ <sub>95</sub> 1.92	S.S.	
FOLATO ERITROCITARIO	322.4	247.7	-1.984 ± 1.98	N.S.	F < 1.88 δ <sub>95</sub> 3.44	S.S.	

Tabla 10. Comparación de los niveles de folato sérico y eritrocitario de los pacientes con respecto a los niveles normales.



ng/ml	GRUPO 1		GRUPO 2		PRUEBA t DE STUDENT		A. DE VARIANZA	
	$\bar{X}$	S	$\bar{X}$	S	Intervalo de aceptación	p	F aceptable	P
FOLATO SERICO	7.91	13.4			$-2.07 \leq t \leq 2.07$ dbt 2.68	S.S.	$F < 5.0$ dbt 1.93	N.S.
FOLATO ERITROCITARIO	364.1	447.2			$-2.07 \leq t \leq 2.07$ dbt 0.85	N.S.	$F < 5.0$ dbt 3.57	N.S.

ng/ml	GRUPO 1		GRUPO 3		PRUEBA t DE STUDENT		A. DE VARIANZA	
	$\bar{X}$	S	$\bar{X}$	S	Intervalo de aceptación	p	F aceptable	P
FOLATO SERICO	7.91	5.72			$-2.04 \leq t \leq 2.04$ dbt 1.73	N.S.	$F < 2.31$ dbt 1.88	N.S.
FOLATO ERITROCITARIO	364.1	247.7			$-2.04 \leq t \leq 2.04$ dbt 2.38	S.S.	$F < 2.34$ dbt 3.63	S.S.

ng/ml	GRUPO 2		GRUPO 3		PRUEBA t DE STUDENT		A. DE VARIANZA	
	$\bar{X}$	S	$\bar{X}$	S	Intervalo de aceptación	p	F aceptable	P
FOLATO SERICO	13.4	5.72			$-2.12 \leq t \leq 2.12$ dbt 4.22	S.S.	$F < 5.91$ dbt 2.9	N.S.
FOLATO ERITROCITARIO	447.2	247.7			$-2.12 \leq t \leq 2.12$ dbt 3.48	S.S.	$F < 5.91$ dbt 3.63	N.S.

Tabla 11. Comparación de los niveles de folato sérico y eritrocitario de los distintos grupos estudiados.

embargo con el análisis de varianza para el folato sérico y también para el eritrocitario no se encontraron diferencias significativas (Tabla 11c).

Para considerar si existen diferencias significativas entre los niveles de folato sérico y eritrocitario en los distintos grupos estudiados se tomará como prueba de mayor confiabilidad el análisis de varianza, ya que la prueba t de Student por ser tan sensible pueda dar diferencias significativas falsas, puesto que influye el tamaño de las muestras estudiadas.

#### 5 CORRELACION ENTRE FOLATO SERICO Y ERITROCITARIO EN LOS GRUPOS DE PACIENTES.

Para los tres grupos de pacientes se determinó la correlación entre los niveles de folato sérico y eritrocitario, encontrándose que para el grupo 1,  $r = 0.054$  (Fig. 11 Tabla 12), lo cual indica una falta de correlación entre ambos niveles.

Para el grupo 2 el valor de  $r = -0.553$  (Fig. 12 Tabla 12), el cual también nos muestra una mala correlación y a la vez nos indica por el signo negativo, una cierta relación inversa.

Por último en el grupo 3 se encontró que  $r = 0.772$  (Fig 13 Tabla 12), el cual representa una correlación aceptable, que refleja una relación directa entre ambos niveles.

#### 6 FOLATO EN PULQUE

Puesto que entre los pacientes cirróticos por alcoholismo y alcohólicos crónicos se encontró que algunos acostumbraban principalmente la ingestión de pulque y como se sabe esta bebida contiene ciertas vitaminas del complejo B, se decidió determinar la concentración de folato en pulque, puesto que no se encontraron informes al respecto.

	COEFICIENTE DE CORRELACION ( r )
sujetos nor- males	0.3639
GRUPO 1	0.054
GRUPO 2	-0.553
GRUPO 3	0.772

Tabla 12. Correlación de los niveles de folato sérico y folato eritrocitario

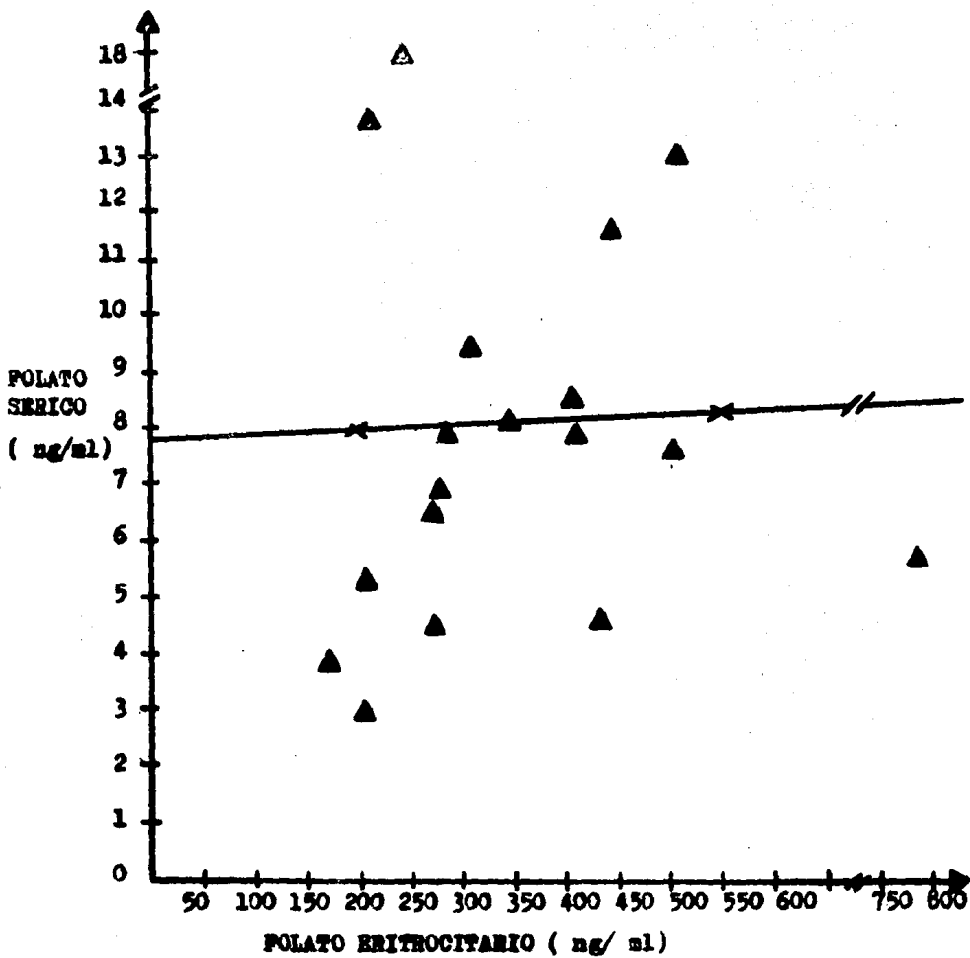


Fig. 11. Correlación entre los niveles de folato sérico y eritrocitario en los pacientes del grupo 1,  $r = 0.054$ ,  $m = 1.23 \times 10^{-3}$ ,  $n = 19$ .

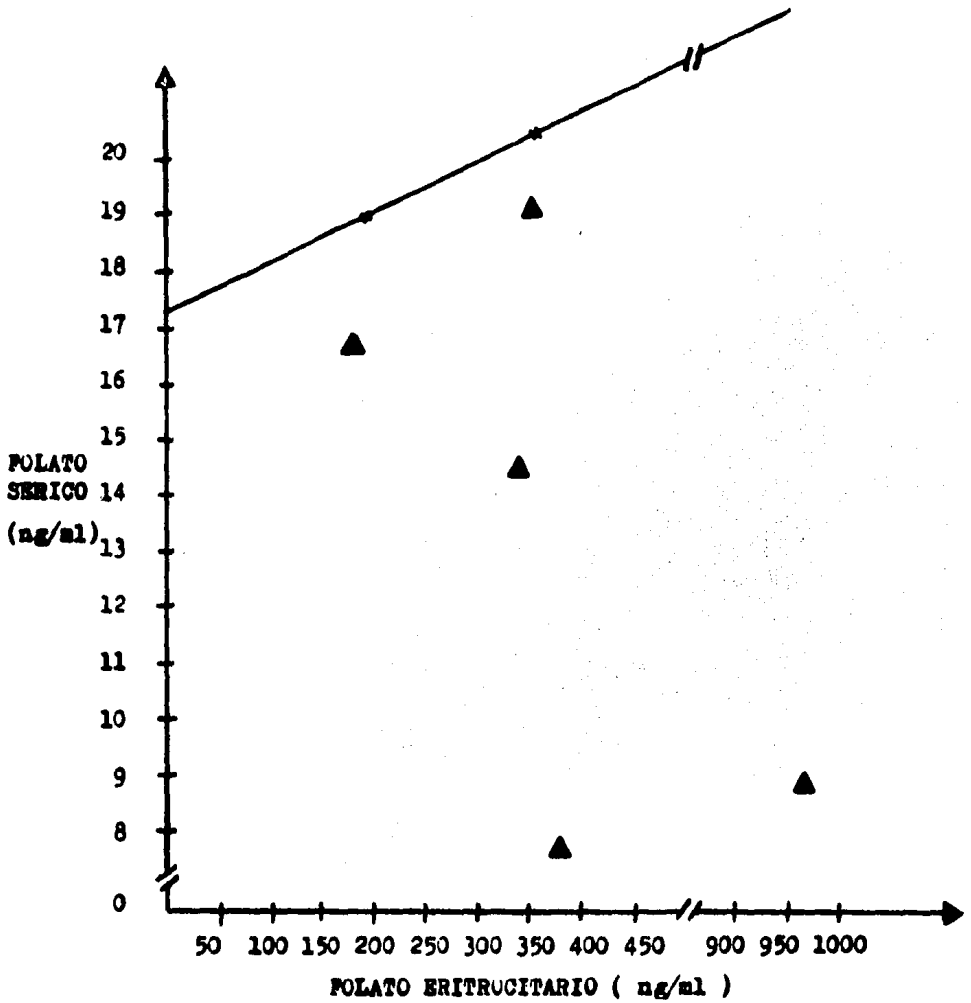
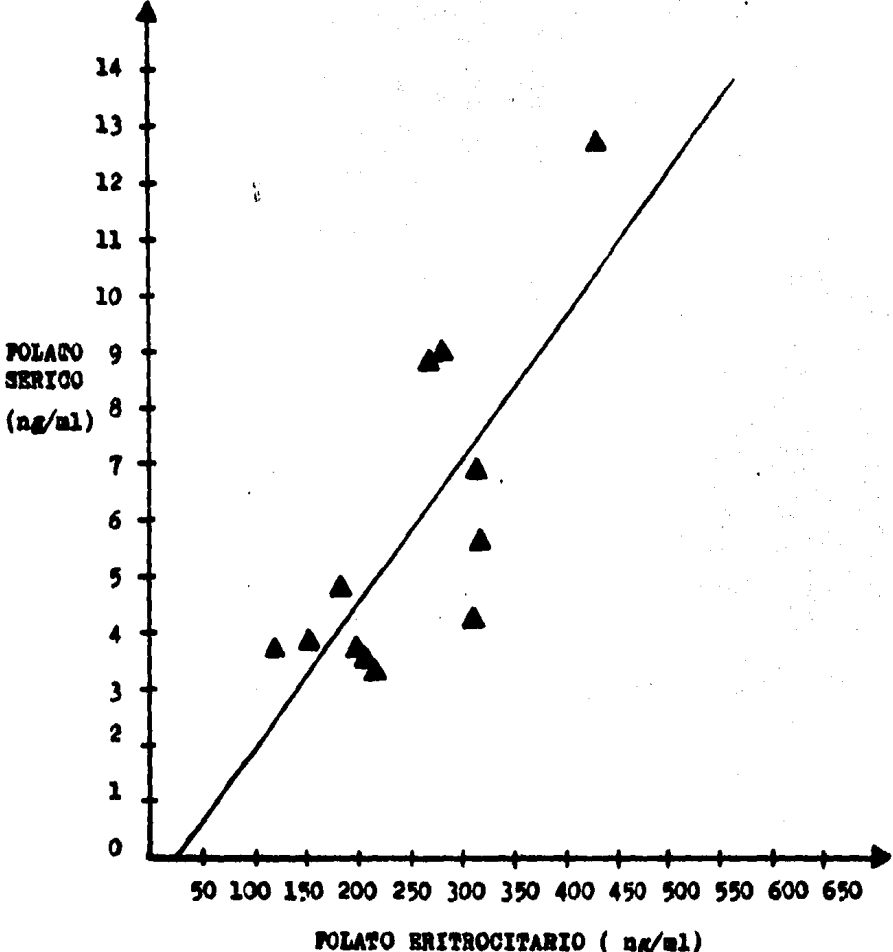


Fig. 12. Correlación entre los niveles de folato sérico y eritrocitario en los pacientes del grupo 2,  $r = -0.553$ ,  $m = 8.8 \times 10^{-3}$ ,  $n = 5$ .



**Fig. 13.** Correlación entre los niveles de folato sérico y eritrocitario en los pacientes del grupo 3,  $r = 0.772$  ,  $s = 0.026$  ,  $n = 13$

Empleando el mismo método microbiológico se determinó la concentración de folato en cuatro muestras distintas de pulque y se obtuvo una concentración promedio de  $58.2 \pm 18.4$  ng/ml (Tabla 13).

Ya que esta concentración de folato en pulque es aproximadamente 6 veces mayor que la concentración en suero, se quiso encontrar una posible diferencia de los niveles de folatos entre los sujetos bebedores y los no bebedores de pulque.

#### 7 NIVELES DE FOLATOS EN SUJETOS BEBEDORES Y NO BEBEDORES DE PULQUE.

Los pacientes alcohólicos crónicos cirróticos y no cirróticos fueron agrupados como bebedores y no bebedores de pulque.

En los cirróticos por alcoholismo hubo un 73.7 por ciento de bebedores de pulque, con un nivel de folato sérico de  $8.95 \pm 4.0$  ng/ml y de folato eritrocitario de  $337.5 \pm 140.4$  ng/ml. Mientras que en los no bebedores de pulque que constituyeron aproximadamente el 26.3 por ciento, el folato sérico fue de  $6.32 \pm 1.78$  ng/ml y en eritrocitos fue de  $438.6 \pm 208.0$  ng/ml.

En ambos grupos se observa que para el folato sérico hay una diferencia significativa donde los bebedores de pulque muestran un nivel más alto, sin embargo para el folato eritrocitario no se apreciaron diferencias significativas. Esto se determinó utilizando la prueba de análisis de varianza.

Comparando con los valores normales y aplicando la misma prueba estadística se encontró en los cirróticos por alcoholismo lo siguiente: en los bebedores de pulque los niveles de folato sérico y eritrocitario son normales, mientras que en los no bebedores de pulque el folato sérico es significativamente menor que el normal, con respecto al folato eritrocitario se encuentra dentro de lo normal (Tabla 15)

Nuestra	Dilución	Concentración ( ng/ml )
1	1:50	80
2	1:50	55
3	1:50	35.5
4	1:50	62.5
$\bar{X} \pm D.E.$	-	58.2 $\pm$ 18.4 (40 a 77)

Tabla 13. Concentración de folato en pulque, determinada en diferentes muestras de pulque.



En los alcohólicos crónicos hubo un 54.0 por ciento de bebedores de pulque con un nivel de folato sérico de  $6.3 \pm 3.4$  ng/ml y de folato eritrocitario de  $248.6 \pm 102.4$  ng/ml. En tanto que para los no bebedores de pulque, que fueron el 46.0 por ciento, la concentración de folato sérico fué de  $5.0 \pm 2.0$  ng/ml y en eritrocitos de  $246.1 \pm 67.3$  ng/ml. Aplicando la prueba de análisis de varianza no se encontraron diferencias significativas en suero ni en eritrocitos (Tabla 16).

Por otra parte comparando con los valores normales y aplicando la misma prueba estadística, se encontró que en los bebedores de pulque el nivel de folato sérico es normal y el nivel de folato eritrocitario es menor que el normal. En el caso de los no bebedores de pulque se encontró que tanto el nivel sérico como el eritrocitario son menores que los normales, significativamente (Tabla 17).

	CIRROTICOS BEBEDORES DE PULQUE $\bar{X} \pm D.E.$	CIRROTICOS NO BEBEDORES DE PULQUE $\bar{X} \pm D.E.$	A.DE VARIANZA	
			F aceptable	P
FOLATO SERICO ng/ml	8.95 $\pm$ 4.0	6.32 $\pm$ 1.78	F < 3.18 F = 5.0 obt	S.S.
FOLATO ERITROCI TARIO ng/ml	337.5 $\pm$ 140.4	438.6 $\pm$ 208.0	F < 5.91 F = 2.19 obt	N.S.

Tabla 14. Comparación de los niveles de folato sérico y eritrocitario de los pacientes cirróticos bebedores de pulque y los no bebedores de pulque.

	NORMAL $\bar{X} \pm D.E.$	CIRROTICOS BEBEDORES DE PULQUE $\bar{X} \pm D.E.$	A. DE VARIANZA	
			F aceptable	P
FOLATO SERICO ng/ml	9.08 $\pm$ 3.94	8.95 $\pm$ 4.0	F < 2.26 P = 1.03 obt	N.S.
FOLATO E- RITROCITA- RIO ng/ml	322.4 $\pm$ 155.4	337.5 $\pm$ 140.4	F < 1.82 P = 1.22 obt	N.S.

	NORMAL $\bar{X} \pm D.E.$	CIRROTICOS NO BEBEDORES DE PULQUE $\bar{X} \pm D.E.$	A. DE VARIANZA	
			F aceptable	P
FOLATO SERICO ng/ml	9.08 $\pm$ 3.94	6.32 $\pm$ 1.78	F < 2.46 P = 2.46 obt	S.S.
FOLATO ERITROCI- TARIO ng/ml	322.4 $\pm$ 155.4	438.6 $\pm$ 208.0	F < 5.66 P = 1.79 obt	N.S.

Tabla 15. Comparación de los niveles de folato sérico y eritrocitario de los pacientes cirróticos bebedores y no bebedores de pulque con respecto a los niveles normales.

	ALCOHOLICOS BEBEDORES DE PULQUE $\bar{X} \pm$ D.E.	ALCOHOLICOS NO BEBEDORES DE PULQUE $\bar{X} \pm$ D.E.	A. DE VARIANZA	
			F acepta- ble	F
FOLATO SERICO ng/ml	6.32 $\pm$ 3.40	5.0 $\pm$ 2.00	F < 4.39 F = 3.0 obt	N.S.
FOLATO ERITROCI- TARIO ng/ml	248.6 $\pm$ 102.4	246.1 $\pm$ 67.3	F < 4.39 F = 2.31 obt	N.S.

Tabla 16. Comparación de los niveles de folato sérico y eritrocitario de sujetos alcohólicos bebedores y no bebedores de pulque.

	NORMAL $\bar{X} \pm D.E.$	ALCOHOLICOS BEBEDORES DE PULQUE $\bar{X} \pm D.E.$	A. DE VARIANZA	
			F aceptable.	P
FOLATO SERICO ng/ml	9.08 $\pm$ 3.94	6.32 $\pm$ 3.40	F < 2.19 F = 1.28 obt	N.S.
FOLATO ERITROCI- TARIO ng/ml	322.4 $\pm$ 155.4	248.6 $\pm$ 102.4	F < 2.21 F = 2.3 obt	S.S.

	NORMAL $\bar{X} \pm D.E.$	ALCOHOLICOS NO BEBEDORES DE PULQUE $\bar{X} \pm D.E.$	A. DE VARIANZA	
			F aceptable	P
FOLATO SERICO ng/ml	9.08 $\pm$ 3.94	5.0 $\pm$ 2.0	F < 2.3 F = 3.87 obt	S.S.
FOLATO ERITROCI- TARIO ng/ml	322.4 $\pm$ 155.4	246.1 $\pm$ 67.3	F < 2.32 F = 5.33 obt	S.S.

Tabla 17. Comparación de los niveles de folato sérico y eritrocitario de los sujetos alcohólicos bebedores y no bebedores de pulque, con respecto a los niveles normales.

## VI D I S C U S I O N

### 1 VALORES NORMALES

Del análisis de nuestros resultados encontramos que entre los valores normales de folato sérico y eritrocitario en mujeres y hombres no existen diferencias significativas, así como tampoco se encontraron diferencias con respecto a la edad, esta información obtenida va de acuerdo con distintos reportes en donde no se consideran diferencias ni por edad ni por sexo(11).

Los valores normales de folato sérico y eritrocitario obtenidos se encuentran dentro de los reportados en la literatura extranjera:

	Niveles de folato (ng/ml)	
	Sérico	Eritrocitario
Grzeiukowicz (1965)	6.7-14.6	325 - 470
Manchester (29)	$\bar{X} = 9.2$	$\bar{X} = 407.3$
Hoffbrand (1966)	6.0-18.6	166 - 640
Londres (38)	$\bar{X} = 9.7$	$\bar{X} = 316$
Valores obtenidos	5.08-13.0 $\bar{X} = 9.08$	167 - 478 $\bar{X} = 322.4$

## 2 NIVELES DE FOLATOS EN LOS PACIENTES

GRUPO 1: En los pacientes de este grupo se encontraron valores dentro de la normalidad tanto del folato sérico como del eritrocitario, ya que no hubo diferencia significativa con respecto a los valores normales.

Los pacientes de este grupo tienen como antecedente en común el alcoholismo crónico y la cirrosis hepática.

Como se sabe uno de los principales sitios de almacén del folato es el hígado y la disfunción hepática afecta este almacén liberando el folato al torrente sanguíneo (66,69) podemos decir que los pacientes cirróticos quienes sufren una disfunción hepática grave pueden tener niveles de folato circulante en suero, normales o probablemente altos, lo que podría justificar nuestros resultados, si es que no se excretan por orina, mientras que los niveles de folato eritrocitario posiblemente sean normales o altos, ya que el eritrocito funciona según se ha mencionado como un sitio de almacén (29,43), que estaría captando algo de folato de exceso en suero, si es que lo requiere y la otra parte de este exceso puede excretarse por orina (19) y de esta manera no se presentarían valores más altos de lo normal, como pudo haber sucedido en nuestro estudio, pero no se analizó el folato en orina.

Se sabe que el alcohol etílico también afecta los almacenes del folato (5) y además puede interferir en la absorción a nivel intestinal (31), por lo que probablemente el alcohol y/o sus metabolitos pueden contribuir a una deficiencia de folato que no se observa en este grupo, probablemente como consecuencia de la liberación de folatos a la circulación por la disfunción hepática.

GRUPO 2: Con respecto a este grupo, los pacientes presentan una cirrosis de etiología no alcohólica. En estos pacientes se encontró que los niveles de folato sérico y eritrocitario están aumentados en comparación con los normales, pero sin que se aprecie una diferencia significativa. Además los niveles de folato sérico se encuentran más elevados que los del grupo 1, aunque la diferencia tampoco es significativa.

Aquí se presenta probablemente la misma situación que en el grupo 1, sin embargo los valores de folato sérico son más altos que en los pacientes cirróticos por alcoholismo, tal vez porque no existe el efecto inhibitorio del etanol (30,31) y/o sus metabolitos (18).

GRUPO 3: En este grupo los valores de folato sérico y eritrocitario se encontraron por debajo de los valores normales, presentando diferencias significativas. La correlación entre ambos valores es buena, lo que va de acuerdo con reportes de que en sujetos alcohólicos crónicos, después de la ingestión de alcohol surge una relación directa entre los niveles séricos y eritrocitarios de folato. Puesto que muchos de estos pacientes a menudo presentan concentraciones de folato de reserva marginales, desarrollándose en estos casos más rápidamente deficiencia de folato sérico (18).

Los niveles bajos de folatos encontrados en este grupo son causados probablemente por el efecto del etanol, que como se sabe puede ser a nivel de absorción (31), a nivel metabólico, interfiriendo con algunas vías como la inhibición de la conversión de piridoxal a fosfato de piridoxal (34), el cual es necesario para la formación del 5,10-metilen- $H_4$  folato a partir del  $H_4$  folato (32,74). También se ha mencionado que puede afectar la conversión del pteroilglutamato a 5-metil- $H_4$  folato, a nivel in-



testinal y de médula ósea (30), además de interferir con el almacén del folato (5). Sin embargo no se puede desligar la influencia de los hábitos alimenticios en la disminución de los niveles de folatos.

Al comparar estos valores con los del grupo 1, se observó que hubo diferencias significativas solo en los valores de folato eritrocitario.

Comparando con los valores del grupo 2, no se observaron diferencias significativas, ni en el folato sérico ni en el eritrocitario no obstante el resultado de la prueba estadística podría no ser confiable debido al número reducido de individuos del grupo 2, con el cual se compara. Este grupo fué pequeño debido al bajo ingreso del tipo de pacientes requeridos a este centro hospitalario donde fué realizado el estudio. Sin embargo puede verse que si hay diferencia considerable con respecto al folato sérico aunque no con el folato eritrocitario (Tabla 11c).

### 3 NIVELES DE FOLATOS EN SUJETOS BEBEDORES Y NO BEBEDORES DE PULQUE.

En general los bebedores de pulque presentaron niveles séricos de folato más altos que en los no bebedores, aunque en los niveles de folato eritrocitario no se observó dicha relación.

Comparando con los valores normales en general los bebedores de pulque presentaron niveles de folato sérico que se encuentran dentro de la normalidad. Para los niveles de folato eritrocitario se encontró que solo en los alcohólicos crónicos, fueron menores de lo normal, mientras que en los cirróticos son normales.

En los no bebedores de pulque se observó que el folato sérico en ambos grupos es menor que el normal en los pacientes alcohólicos crónicos y normal en los cirróticos.

## VII C O N C L U S I O N E S

Los valores normales de los niveles de folato sérico y eritrocitario de una población mexicana de la zona norte del D.F. estudiada, fueron:

9.08  $\pm$  3.94 ng/ml (5.08 a 13 ng/ml) en suero y

322.4  $\pm$  155.4 ng/ml (167.0 a 478.0 ng/ml) en eritrocitos

Puesto que estos valores se obtuvieron de una población elegida al azar, de la zona norte del D.F. con características comunes de vida (nivel socioeconómico y cultural), se pueden extrapolar a otras poblaciones de México con características similares.

Por otra parte parece ser que normalmente no existe correlación entre los niveles de folato sérico y eritrocitario.

Los individuos con cirrosis hepática de etiología no alcohólica presentaron niveles séricos y eritrocitarios normales, puesto que se esperaban niveles muy bajos por el daño hepático que se presenta, la posible explicación que se puede dar a este hallazgo es que como probablemente hay una liberación de folato al torrente sanguíneo por parte de las reservas hepáticas aumenta su concentración circulante, de la cual cierta cantidad podría ser captada por los eritrocitos si es que la requieren y el resto tal vez sea excretado por orina. Por esta razón, puede ser que los niveles séricos y eritrocitarios de folato sean normales, sin embargo la disfunción hepática existe y consecuentemente una mala utilización de folato, que en última instancia puede llegar a desarrollar una megaloblastosis aunque no se presente una deficiencia de folato detectable en suero.

Los pacientes cirróticos no alcohólicos presentaron valores de folato sérico y eritrocitario dentro de la normalidad, no obstante el folato sérico está aumentado con respecto a los cirróticos alcohólicos. Esto nos hace pensar que el alcohol y/o sus metabolitos posiblemente tengan un efecto directo sobre el metabolismo del folato que incluye la afectación de su absorción y almacenamiento en hígado, y por lo tanto los cirróticos alcohólicos a pesar de haber interrumpido la ingestión de alcohol tienen deteriorados o disminuidos sus almacenes de folato, por lo cual podría ser que la concentración de folato liberada del hígado durante la cirrosis sea mayor en los pacientes que no tomaron alcohol, que en aquellos con antecedente de alcoholismo crónico.

Con respecto al folato eritrocitario se vió que permaneció normal tanto en cirróticos no alcohólicos como en cirróticos alcohólicos, esto posiblemente se deba a que sea utilizado solo en casos de deficiencia en suero y como en este caso no se presenta dicha deficiencia, no hay disminución del contenido de folato en eritrocitos.

Los pacientes alcohólicos crónicos presentaron niveles de folato tanto sérico como eritrocitario disminuidos, además ambos valores correlacionaron bien por lo cual parece ser que en los casos de deficiencia de folato sérico por alcoholismo, más una dieta inadecuada, se movilizan las reservas eritrocitarias, bajando su contenido para cubrir las necesidades del organismo.

En general la enfermedad hepática como se ha observado en este estudio no causa deficiencia manifiesta de folatos, sin embargo la mala utilización de ellos puede conducir finalmente a una deficiencia.

En el caso de los sujetos alcohólicos crónicos, la deficien-

cia probablemente este relacionada no solo con el efecto del etanol y/o sus metabolitos sobre el metabolismo del folato, sino también con su alimentación que generalmente es pobre en cantidad y calidad según testimonio de los mismos pacientes.

En relación con los niveles de folato de los sujetos alcohólicos bebedores y no bebedores de pulque (cirróticos y no cirróticos), se puede decir que en general los sujetos bebedores de pulque muestran niveles de folato sérico mayores que los no bebedores, aunque en algunos casos no significativamente.

Sin embargo en el caso del folato eritrocitario no se observa esta relación.

En los cirróticos en general los valores de folato sérico y eritrocitario son normales, encontrándose solo niveles de folato sérico menores del normal, en los sujetos no bebedores de pulque.

En cuanto a los sujetos alcohólicos la mayoría de los valores de folato son menores de lo normal y solamente es menor el folato sérico, en los sujetos bebedores de pulque, lo cual probablemente se deba al aporte del folato en el pulque, que es de aproximadamente de 40 a 77 ng/ml, según nuestra propia determinación.

Considerando que los sujetos cirróticos han dejado de ingerir alcohol y su alimentación es ahora adecuada, esto puede explicar que en la mayoría de los casos sean normales los niveles de folato.

Por otro lado en los sujetos alcohólicos, los valores de folato más bajos de lo normal encontrados se deben probablemente a los efectos del etanol y a la mala alimentación, además observamos que aunque en el caso de los alcohólicos bebedores de pulque el folato sérico es normal, el folato eritrocitario es más bajo de lo normal, lo cual posiblemente se deba a que el etanol

afecta las reservas eritrocitarias, sin que tenga alguna influencia la ingestión de pulque. Sin embargo el estudio sobre la relación de los niveles de folato con la ingestión de pulque no es concluyente y es necesaria una investigación más profunda

## B I B L I O G R A F I A

- 1.- Alter, H., Zvaifler, N. and Rath, C. Interrelationship of rheumatoid arthritis, folic acid and aspirin. *Blood*, 38,4:405-16, 1971.
- 2.- Arakawa, T., Fujii, M., and Ohara, K. Erythrocyte formiminotransferase deficiency syndrome. *Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 88:195, 1966a.
- 3.- Arakawa, T., Fujii, M., Ohara, K. Watanabe, S., Karahashi, K., Kobayashi, M. and Hiroho, H. Mental retardation with hyperfolicacidemia not associated with formiminoglutamic-aciduria cyclohydrolase deficiency syndrome. *Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 88:341, 1966b.
- 4.- Baker, H., Thomson, A., Feingold, S. and Franck, O. Role of jejunum in the absorption of folic acid and its polyglutamates. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 22,2:124-132, 1969.
- 5.- Browns, J., Davidson, G. and Scott, J. Effect of diphenylhydantoin and ethanol feeding on the synthesis of rat liver folates from exogenous pteroylglutamates <sup>3</sup>H. *Biochemical Pharmacology*, 22:3287-89, 1973.
- 6.- Bernstein, L., Gutstein, S., Fron, G. and Wager, G. Experimental production of elevated serum folate in dogs with intestinal blind loops II. Nature of bacterially produced folate coenzymes in blind loop fluid. *American Journal Clinical Nutrition*, 28: 925- 929, 1975.
- 7.- Baker, H., Frank, O., Zetterman, et. al. Inability of chronic alcoholics with liver disease to use food as source of folates thiamin and vitamin B<sub>6</sub>. *American Journal Clinical Nutrition*, 28: 1377- 1380, 1975.
- 8.- Calderón Narvaes, G. El alcoholismo, problema médico y social. *Gaceta Médica de México*, 116,6: 239-252, Junio, 1980.
- 9.- Carter, F., Heller, P., Schaffner, G., and Korn, R. J. *Archives of Internal Medicine*, 108:41, 1961.

- 10.- Chanarin, I., Hutchinson, W., Mc Lean, A. and Moule, M. Hepatic folate in man. *British Medical Journal*, 1:396, 1961.
- 11.- Chanarin, I. The Megaloblastic Anaemias. I. Ed. Oxford, England Blackwell Scientific Pub., 1969.
- 12.- Cherrick, G. R., Baker, H., Frank, O. and Leevy, C.M. Observations on hepatic avidity for folate in Laennec's cirrhosis. *Journal Laboratory Clinical Medicine*, 66: 446, 1965.
- 13.- Colman, N., Herbert, V. Total folate binding capacity of normal human plasma and variations in uremia, cirrhosis and pregnancy. *Blood*, 48,6: 911-921, 1976.
- 14.- Cowan, S.T. y Steel, K.J. Manual para la identificación de bacterias de importancia médica. Cfa. Editorial Continental, S.A. 2a. edición, Méx. 1979, p: 97-98.
- 15.- Dahlke, M.M., Mertens, E. Roesler. Malabsorption of folic acid due to diphenylhydantoin. *Blood*, 30,3:341-351, 1967.
- 16.- Davidsohn, I., Henry, J.B. Diagnóstico Clínico por el Laboratorio. Salvat Editores, S.A. 6a. edición, España, 1979, p:196.
- 17.- Day, P.L., Contab, A. and Darby, W. J. Failure of nicotinic acid to prevent nutritional cytopenia in the monkey. *Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 38:860, 1938.
- 18.- Eichner, E.R., Hillman, R.S. Effect of alcohol on serum folate level. *Journal Clinical Investigation*, 52: 584, 1973.
- 19.- Eichner, E.R. The hematologic disorders of alcoholism. *The American Journal of Medicine*, 54:621-29, 1973.
- 20.- Elsborg, L., and Bastrup, P. Madson. Folic acid absorption in various gastrointestinal disease. *Scandinave Journal of gastroenterology*, 11:333-35, 1976.
- 21.- Farreras Valenti, P. Medicina Interna, Tomo I, 1a. edición, Marín, México, 1978, p: 255.
- 22.- Fernández, F.-Costa and Jack-Mets, J. The specific folate binding capacity of serum. Evidence that levels are not directly related to folate nutrition but influenced by hormonal status. *Journal of Laboratory Clinical Medicine*, 98:119, 1981.

- 23.- Garcia, A.-Sainz. Oxidación del etanol y su repercusión metabólica. Gaceta Médica Mexicana, 119, I; 2-5, Jun, 1983.
- 24.- Giles, C. 335 cases of megaloblastic anemia in the pregnancy and pubertad. Journal of Clinical Pathology, 19, 1-11, 1966.
- 25.- Gimferrer, E., Guarner, C., Balanno, J., Baiget, M., Pujol, N., Presa, F. La macrocitosis del hepático: estudio de los folatos y vitamina B<sub>12</sub> hemáticos y de la síntesis de la timidina en células he matopoyéticas. Sangre, 27, 4-B: 612-28, 1982.
- 26.- Goldstein, A., Arnow, R., Kalman, N. Principles of drug action. The Basis of Pharmacology. Willey Internal Edition. 2nd ed., USA, p: 246.
- 27.- Goodman, L y Gildman, A. Bases farmacológicas de la terapéutica, Interamericana, 5a. edición, México, 1980, p: 1113-1134.
- 28.- Grossowicz, N.F., Mandelbaum-Shavit, Davidoff, R. and Aronouitch, J. Microbiological determination of folic acid derivatives in blood. Blood, 20, 5 :609-616, Nov, 1962.
- 29.- Grzesiukowicz, H., Jennison, R.F. and Gowenlock, A.H. Enzymatic release of folate activity from the red cells in megaloblastic anaemia of pregnancy. Journal Clinical Pathology, 18: 599-603, 1965.
- 30.- Halsted, Griggs and Harris, The effect of alcoholism on the absorption of folic acid (<sup>3</sup>H-PGA ) evaluated by plasma levels an urine excretion. Journal of Laboratory Clinical Medicine, 69: 116-131, 1967.
- 31.- Halsted, Roblee and Mezey. Intestinal malabsorption in folate deficient alcoholics. Gastroenterology, 64: 526-532, 1973.
- 32.- Harper, H.A. Rodwell, V.W., Mayes, P.A. Manual de Química Fisiológica. El Manual Moderno, S.A. 7a edición, México, 1980, p: 191-198.
- 33.- Herbert, V.A. palatable diet for producing experimental folate deficiency in man. American Journal Clinical Nutrition, 12:17, 1963.
- 34.- Herbert, V., Zalusky, R. and Davidson, C.S. Correlation of folate deficiency with alcoholism and associated macrocytosis, anemia and liver disease. Annals of Internal Medicine, 58, 6: 977-988, 1963.



- 35.- Heidemann, E., Nerke, O., Waller, H.D. Alkotoxische veränderungen der hematopoiese eine prospektive studie bei chronischen alkoholokern. *Klin. Wochenschr* 59, 23:1303-13, 1981.
- 36.- Hild, D.H. Folate losses from the skin in exfoliative dermatitis. *Archives of Internal Medicine*. 123 : 51-54, Jan, 1969.
- 37.- Hoffbrand, A.V. Clinica Hematológica Anemia Megaloblástica, Vol. 4, No. 3, Salvat Editores, S.A. México, 1980.
- 38.- Hoffbrand, A.V., Newcombe, B.F.A., and Kollin, D.L. Method of assay of red cell folate activity and the value of the assay as a test for folate deficiency. *Journal Clinical Pathology*, 19, 17:17-28, 1966.
- 39.- Hogan, A.G., and Parrot, E.M. Anemia in chicks due to vitamin deficiency. *Journal of Biological Chemistry*, 128:46, 1939.
- 40.- Holm, J., Ingemann, H.S., and Lyngbye, J. Cofactor serum for high affinity folate binding in milk. *Clinical Chemistry*, 26, 11:1591-1592, 1980.
- 41.- Howe, R., Branda, R., Douglas, S. and Brunning, R. Hereditary dyserythropoiesis with abnormal membrane folate transport. *Blood*, 54, 5, 1979.
- 42.- Hurdle, A.D.F. The folate content of a hospital diet M.D. Thesis, University of London, 1967.
- 43.- Ingemann, S., Holm, J. and Lyngbye, J. Evidence that the low-affinity folate-binding protein in erythrocyte hemolysate is identical to hemoglobin. *Clinical Chemistry*, 27, 7:1247-1249, 1981.
- 44.- Iwa, K., Lutter. *Journal of Biological Chemistry*, 23: 2365-69, 1964.
- 45.- Kesavan, V., Noronha, J.M. Folate malabsorption in aged rats related to low levels of pancreatic foyl conjugase. *American Journal Clinical Nutrition*, 37, 2: 262-267, Feb, 1983.
- 46.- Klipstein, F., and Lindenbaum, J. Folate deficiency in chronic liver disease. *Blood*, 25: 443, 1965.
- 47.- Konrad, H., Esther, G., Hunkel, S., Koch, K., Schawagner, A., Maass, M., Nowotny, P. Rehpenning, W. Zur Komplexen Genese der Anämie bei Chronischen Lebererkrankungen (complex genesis of anemia in chronic liver disease). *Folia Haematologica*, 105, 6: 757-769, 1978.

- 48.- Lindenbaum, J. , Whitehead, N. and Reyner, P. Oral contra-  
ceptives hormones folate metabolism and the cervical epithe-  
lium. American Journal Clinical Nutrition, 28: 346-353,1975.
- 49.- Lisker, R., Pérez,R.B. Marcadores genéticos en la cirrosis he-  
pática. Revista de Investigación Clínica, 29: 63,1977 (Méx.)
- 50.- Magnus, E.M. Folate activity in serum and red cells of pati-  
ents with cancer. Cancer Research, 27 part I:490-497, 1967.
- 51.- Majumdar, S. Shaw, G., O'Gorman, P., Aps, E., Offerman,E.,Thom-  
son, A. Blood vitamin status ( B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, folic acid and B<sub>12</sub>)  
in patients with liver disease. Int. Journal of Vitamin Nu-  
trition Research, 52, 3: 266-271, 1982.
- 52.- Meyers,T.H., Jawetz, E., Goldfich, A. Manual de Farmacología  
Clínica. El Manual Moderno, S.A., 4a. edición, México, 1980,  
p: 530-534.
- 53.- Mitchell,H.K., Snell,E., Williams,R. The concentration of fo-  
lic acid. J. American Chemistry Soc. 63:2284, 1941.
- 54.- O'Broin,J.D., Temperley, I.J., Scott, J.M. Erythrocyte, plas-  
ma and serum folate: Specimen stability before microbiologi-  
cal assay. Clinical Chemistry, 26, 3: 522-524, 1980.
- 55.- Ochoa Rojo, E.A. Hematología básica,Manual de prácticas del  
laboratorio clínico. 1a. edición, Méx. p: 50-51.
- 56.- Pietarinen, Leichter, J. and Pratt, R.T. Dietary folate inta-  
ke and concentration of folate in serum and erythrocytes in  
women using oral contraceptives. American Journal of Clinical  
Nutrition, 30:375-380, 1975.
- 57.- Reisenaver, A.M., Krumdieck,C.L., Halsted, C.M. Folate conju-  
gase: two separate activities in human jejum. Science, 198:  
196-197, 1977.
- 58.- Retief, F., Phil, D. Haskisson, Y. Serum and urinary folate in  
liver disease. Brittiish Medical Journal, 2:150-153, 1969.
- 59.- Rothenberg,S.P. A macromolecular factor in some leukemic cells  
wich bind folic acid. Proceeding of the Society for Experimen-  
tal Biology and Medicine, 133: 428, 1970.
- 60.- Samir,K., Ballas, Parvin, S. and Constantino,M. Reduced erythro-  
cytic deformability in megaloblastic anemia. American Journal  
of Clinical Pathology, 66:953-957, 1976.

- 61.- Sánchez, A., Marroquín, Larios, C. y Vierna, L. Estudios sobre la microbiología del pulque XIX .Elaboración de la bebida mediante cultivos puros, en planta piloto. Revista Latinoamericana Microbiología Parasitología, 9: 83-85, 1967.
- 62.- Santini, R., Berger, P.M., Sheehy, T.W., Aviles, J. and Davila, I. Folic activity in Puerto Rican foods. Journal American Diet. Ass., 14:562,1962.
- 63.- Santini, R., Pérez-Santiago, E., Wheby, M.S. and Butterworth, C.E. Jr. The folic acid cofactor forms in plasma and whole blood of patients with tropical sprue. American Journal Clinical Nutrition, 18,27, 1966.
- 64.- Shojanian, A. and Honady, G. Oral contraceptives and folate absorption. Journal of Laboratory Clinical and Medical, 82,6: 869-875, 1973.
- 65.- Snell, E. and Peterson, W. Growth factors for bacteria X. Additional factors required by certain lactic acid bacteria. Journal of Bacteriology, 26: 273,1940.
- 66.- Stevenson, T. and Beard, M. Serum vitamin B<sub>12</sub> content in liver disease. The New England Journal of Medicine, 260: 206, 1959.
- 67.- Stokastad, E. L.R. and Manning, P.D.V. Evidence of a new growth factor required by chicks. Journal of Biological Chemistry, 125: 687,1938.
- 68.- Thorn, G., Adams, R., Braunwald, E. Isselbacher, K., Petersdorf, R. Principles of Internal Medicine. 8th edition McGraw Hill Book Company, USA, 1977, p: 1604-1615.
- 69.- Waters, A.H. and Hollin, D.L. Studies on the folic acid activity of human serum. Journal Clinical Pathology, 14:335-344, 1961.
- 70.- Watt, B.K. and Merrill, A.L. Composition of foods, raw, processed, prepared (revised). Agr.Res. Serv. Handbook No. 8 U. S. Dept. Agr. Washington D.C. U.S., Govt Printing office,1963.
- 71.- Waxman, S. Folate binding proteins. British Journal of Haematology (Annotation), 29: 23-29, 1975.
- 72.- Waxman, S. and Schreiber, C. Characteristics of folic acid binding proteins in folate deficient serum. Blood, 42,2:291-301, 1973.

- 73.- Waxman, S., Schreiber, C., and Herbert, V. Radioisotopic assay for measurement of serum folate levels. *Blood*, 38,2:219-228, 1971.
- 74.- White, A., Handler, P., Smith, E., Hill, R., Lehman, I. Principios de Bioquímica. Mc Graw-Hill, 6a. edición, España, 1978.
- 75.- Williams, W.J., Beutler, E., Ersleu, A., Rundler, R.W. Hematología. Tomo I, Salvat Editores, S.A., España, 1979, p:283-297.
- 76.- Wills, L., Contab, A. and Lond, B.S. Treatment of "pernicious anaemia of pregnancy" and "tropical anaemia". *British Medical Journal*, 1: 1059, 1931.
- 77.- Wu, A. Chanarin, I., Slavin, G., and Levi, A. Folate deficiency in the alcoholic, its relationships to clinical and hematological abnormalities, liver disease. *British Journal of Haematology*, 29: 469-478, 1975.