INVESTIGACION DE POSIBLES DEFICIENCIAS DE ACIDO FOLICO EN ANEMIAS GRAVES DEL ULTIMO TRIMESTRE DEL EMBARAZO

ESTUDIO PRELIMINAR

Doctores **Hernando Echeverri V.** y **Eduardo Acosta Bendek**, Obstetricia y Ginecología.

Enrique Fals Borda, Hematología.

La anemia megaloblástica ocasionada por falta de vitamina B12 (anemia perniciosa) es rara en la mujer encinta. Esta anemia es más característica de los viejos, y en la mujer trae consigo un descenso de la fertilidad.

Por el contrario, la anemia megaloblástica producida por carencia de ácido fólico durante el embarazo, es mucho más frecuente, 4 por mil ⁽³⁾. Cifra que no es rara si se tiene en cuenta que el embarazo es un fenómeno relativamente frecuente ⁽³⁾. Pero si no se va a buscar una verdadera anemia y el diagnóstico se hace con la sola presencia de megaloblastos en la médula, esta cifra sube a 3 por ciento ⁽³⁾. Pasa con esta anemia como sucede con las enfermedades que obedecen al fenómeno del "iceberg" (anemia perniciosa, angina pectoris) que por cada caso comprobado hay 10 que pasan desapercibidos ⁽³⁾. De ahí algunos prefieren hablar de eritropoyesis megaloblástica sin agregar el término de anemia ⁽³⁾.

Tanto la vitamina B12 como el ácido fólico descienden en el plasma de la embarazada. El niño tiene casi siempre más vitamina B12 y más ácido fólico que la madre. Pero sucede que las demandas de ácido fólico no siempre se suplen oportunamente. Las reservas normales de esta sustancia son de 5 a 10 mlgrs. y la dieta normal suministra de 0.5 a 1.0 mgr. diarios ⁽¹¹⁾. Es pues posible que las reservas y la ingestión diaria no sean suficientes para cubrir las necesidades del feto. Entre nosotros, donde las dietas son tan insuficientes, es muy factible que tanto las reservas como el suministro diario sean notablemente más bajos.

Parece ser que para la maduración completa de las células medulares sea necesario una acción sinérgica entre la vitamina B12, el ácido fólico y la vitamina C. Algo semejante a la que existe entre el Ca. el sol y la vitamina D. Se cree además que la base fundamental de esta sinergia es el ácido fó-

lico; la vitamina B12 y la vitamina C. actuarían como coadyuvantes (¹¹).

Estudios recientes demuestran que ácido fólico y la vitamina B12 son necesarios para la integración del esqueleto púrico y pirimídico y ya se sabe que las purinas y pirimidinas, junto con la ribosa y el ácido fosfórico, forman el esqueleto de los ácidos nucleicos (DNA y RNA). Los efectos tóxicos de esta deficiencia vienen, pues, a manifestarse primero en las células que están en constante y rápida división como son las células de la médula ósea (¹⁰). Lo que hoy se llama grupo del ácido fólico está constituido por una serie de sustancias que se descubrieron como factores aceleradores del crecimiento del *Lactobacillus casei* y del *Streptococcus fecalis* y que intervienen como productores de la hematopoyesis de distintos animales (mono, pollo). De ahí el nombre del factor del *Lactobacillus casei*, factor de crecimiento, vitamina Bc, donde la c significa chicken (⁴).

El más simple de estos compuestos capaz de mostrar actividad es el ácido pteroglumático, en cuya composición entran una pteridina unida al ácido para aminobenzoico y el ácido glumático. Las demás sustancias del llamado grupo del ácido fólico se distinguen del anterior por el número de ácidos glutámicos que van unidos a la molécula, así tenemos el ácido pteroTRIGlumático y pteroHEPTAGlumático, que son llamados conjugados del ácido fólico. Parece que el ácido fólico existe en el organismo en forma de conjugados (⁴). Hoy se sabe igualmente que el ácido fólico para poder actuar tie-

ne primero que transformarse en ácido folínico, cambio que solo tiene lugar en presencia de la vitamina C (¹⁰).

Las sustancias del grupo del ácido fólico fueron descubiertas en las hojas de espinacas, de donde el nombre de fólico. Se encuentra también en gran abundancia en el perejil, la levadura de cerveza y en el hígado. Los cereales como el trigo la contienen en poca cantidad. Es muy escasa en la carne, sobre todo de cerdo, la leche, el queso y las raíces alimenticias (⁴). De esta sola enumeración se desprende que nuestro pueblo, alimentado únicamente de carne o pescado y arroz, debe tener pocas reservas de ácido fólico.

La deficiencia de ácido fólico en la especie humana contribuye a formar varios síndromes, tales como el sprue, anemia macrocítica tropical, leucemia, granulocitopenia y algunas dermatosis (¹⁰). La alteración en la hematopoyesis se traduce por anemia macrocítica, leucopenia y trombocitopenia (⁴). Esta anemia macrocítica puede presentarse en los niños alimentados con tetero por carencia de vitamina C, que como ya vimos, se necesita para la transformación de ácido fólico en folínico. En la mujer embarazada, durante el último trimestre, puede manifestarse debido al suministro insuficiente de ácido fólico.

Ultimamente se viene sosteniendo que la falta de ácido fólico durante el embarazo predispone a la preeclampsia: albuminuria, edema, hipertensión, y la abruptio placentae (⁶). En el embarazo gemelar con hidramnios casi siempre hay carencia de ácido fólico (⁸). Pero su deficiencia contribuye so-

bre todo al parto prematuro, ya que se encuentra en un 27% de los casos (⁸).

Los métodos directos para dosificar el ácido fólico en el organismo son bastante difíciles e inciertos, de ahí que, desgraciadamente, haya que recurrir a un procedimiento indirecto que consiste en buscar en la orina el ácido formiminoglutámico ("figlú"). Este método se basa en que el metabolismo de la histidina se detiene en el ácido formiminoglutámico en ausencia de ácido fólico. El figlú se acumula y es eliminado por la orina donde se puede hallar. El defecto metabólico se acentúa si se le da a la enferma una carga de histidina (⁶).

Como en nuestro país las deficiencias alimenticias son muchísimo mayores que en los países más al norte, hemos pensado que la anemia a megaloblastos del último trimestre del embarazo podría ser bastante más frecuente. Demostrar esto último es el objeto de este trabajo, que dado el pequeño número de observaciones, lo consideramos como estudio preliminar.

Material y métodos

Se estudiaron 10 enfermas de la Maternidad Leopoldina de Santos que tenían una hemoglobina de 10 grms o menos y se encontraban en el último trimestre del embarazo. La edad de estas pacientes fluctuó desde los 22 años hasta 36 años, con un promedio de 27.8 años (véase cuadro). En un futuro próximo nos proponemos estudiar en la misma forma 10 enfermas testigo que tengan la misma proceden-

cia, la misma edad de embarazo, pero con una hemoglobina de 12 o más grms.

En cada una de ellas se trató de buscar la presencia de figlú por medio de la electroforesis en la orina. Para esto se les dió una toma de 10 grms de histidina y se recogieron sus orinas antes y 6 horas después de la toma, agregando al recipiente 0.5 m/l del HCl concentrados para estabilizar el figlú. Se escogieron 6 horas porque es el término de mayor eliminación (⁷).

Para la electroforesis se usó un aparato Elphor, de Kassman y Hannig, con fuente de corriente continua, tensión de 110 voltios, intensidad de 1.1 a 1.4 m/A por tira de papel. Se empleó un tiempo de 2½ a 3 horas para la separación. Se usó una solución "tampon" de veronal que contiene dietilbarbiturato de sodio 29.428 grms; acetato de sodio cristalizado 19.428 grms; HCl 10/N 180 m/l, y agua destilada C. S. para completar 3.000 m/l. El pH final fue de 8.6 y una tensión iónica de 0.1. Se usó papel de filtro Whatman Nº 1.

Se recorrieron simultáneamente 2 tiras de papel, la una con la orina antes y la otra con la orina tomada después de la toma de histidina. En cada tira se corrieron tres muestras simultáneas: una con la orina de la paciente, otra con solución estandarizada de figlú y una tercera con solución de histidina. Para esto se embebía un pequeño cuadrado de papel de filtro de un 1mm², con el líquido de cada una de las tres muestras. Estas soluciones contenían aproximadamente 25 mcgrms de estas sustancias por cada m/l.

Después de corridas por $2\frac{1}{2}$ a 3 horas, se secaron las tiras a 110 grados C. y se expusieron por 10 minutos a los vapores de una solución de hidróxido de amonio concentrado para convertir el figlú en ácido glutámico, ya que éste desarrolla una coloración más intensa que la del figlú con el reactivo de la ninhidrina (⁷). Después se seca nuevamente la tira a 110 grados C. Luego se introduce en una solución de 23 partes de acetona y 2 partes de ácido acético glacial para neutralizar cualquier exceso de amonio. Se seca nuevamente a 110 grados C., se aplica el reactivo de la ninhidrina y se desarrolla el color a 110 grados C. (⁷).

Los otros exámenes de control de la anemia fueron los siguientes: 1º Medulograma por punción esternal. Se examinaron 4 placas para cada enferma. Se buscaron cambios medulares que hicieran sospechar el principio o confirmaran la presencia de una megaloblastosis franca, tales como metamielocitos gigantes, hipersegmentación en la serie granulocítica, presencia de cuerpos de Howell-Jolly y megaloblastosis intermedia o franca en la serie roja.

2º Hemograma. Este incluyó la hemoglobina por el método de la oxi-hemoglobina con carbonato de sodio al 0.1%. Microhematocrito y descripción de la morfología de la serie roja.

3º Proteínas totales. Por el método de Biurett.

4º Hierro sérico y capacidad de fijación del hierro por el plasma. Se

usó el método descrito por Simmons y Gentzkow (⁹), usando la bathophenanthroline en lugar de la O-fenantrolina.

Resultados

De los 10 casos estudiados (Véase cuadro adjunto) solo en 4 de ellos: Nos. 1, 7, 8, 10 tenían cambios megaloblásticos en la medula hipersegmentación, metamielocitos gigantes, megaloblastosis intermedia.

En la sangre periférica de todas las pacientes se encontraron los caracteres comunes de una anemia ferropriva: microcitosis, hipocromia y reducción de la hemoglobina. En 5 de ellas el hierro sérico estaba por debajo de lo normal, los Nos. 2, 3, 4, 6 y 9. Los Nos. 1, 3, 4, 6, 8 y 10, presentaron anisocitosis donde los microcitos alternaban con macrocitos, es decir, síntomas de anemia ferropriva combinada con deficiencia del factor de maduración. En ningún caso la macrocitosis fue total ni se encontraron cuerpos de Howard Jolly.

Es interesante anotar que en los 4 casos con cambios megaloblastoides de la medula, el hierro sérico estaba entre los límites normales bajos, donde se comprueba que existía una perturbación en la utilización del hierro producida por la falta del factor de maduración. El hierro sérico no se encontraba a niveles más altos, como suele verse en las anemias megaloblásticas puras, porque existía además una deficiencia de hierro, tan común en nuestro medio, y que explica el cuadro dimórfico de la sangre periférica,

donde alterna la microcitosis con la macrocitosis, como ya anotamos.

Contra lo que esperábamos solo 3 de estas pacientes, los Nos. 4, 9 y 10, presentaron hipoproteinemia, no muy marcada por cierto. Esto prueba que nuestro pueblo empieza a alimentarse mejor. Por lo demás, el porcentaje de hipoproteinemia podría considerarse alto pero no hay que sacar conclusiones puesto que las 10 enfermas fueron seleccionadas porque presentaban hemoglobinas bajas.

Finalmente anotamos que en ninguna de las pacientes se encontró figlú, antes o después de la toma de histidina. En todas ellas se notó la aparición de histidina en la orina después de la toma.

Comentario y Conclusiones

Ignoramos por qué no se encontró figlú en la orina. Podría ser por el reducido número de casos estudiados o porque los cambios megaloblastoides no eran lo suficientemente marcados para la producción de figlú, o porque la combinación de hierro con deficiencia de ácido fólico hizo menos típica la anemia megaloblástica (5).

En el futuro nos proponemos continuar las experiencias con diferentes dosis de histidina (en el estudio se dieron 10 grms.) y recoger la orina por períodos más largos después de la toma (en el presente trabajo solo se re-

cogió la orina durante 6 horas después de haber dado la histidina).

También pudiera suceder que corrigiendo primero la deficiencia de hierro, que enmascara la falta de factores de maduración, la anemia macrocítica aparezca más típica y entonces sí se encuentre figlú en la orina (5).

Una de las principales críticas al método indirecto de buscar la deficiencia de ácido fólico dando histidina, es la que en la embarazada hay siempre un retardo de absorción intestinal (1). Parece que esta objeción no tiene valor en los casos presentes, puesto que en todos la histidina apareció en la orina. También se ha dicho que la histidina puede ser metabolizada en el hígado (1), pero para ser metabolizada completamente necesita la presencia de ácido fólico. Tampoco aquí se metabolizó en el hígado, puesto que apareció en la orina.

Como dijimos al empezar, este trabajo es apenas un estudio preliminar y dado el pequeño número de casos estudiados, nos es imposible sacar conclusiones definitivas. Por lo pronto solo podemos afirmar, basados sobre todo en el estudio de los frotis medulares, que la hematopoyesis megaloblástica es bastante frecuente entre nosotros y esto explicaría el por qué se encuentran tantos casos de anemia ferropriva rebeldes a la terapéutica marcial. De ahí que nos atrevemos a aconsejar dar en el último trimestre del embarazo una combinación de hierro con ácido fólico.

Nombre	Nº	Edad	Semanas Prot.		H.b.	Herto.	Hierro	Cap. de	% satu- ración 25-50 %	Morfología de la serie		Medulograma	Figl en orina
			emba- razo	Tot. 6-8 gm %			sérico 45-150 mcg %	Fijac. plas- ma 200 mcg %		roja	en placa		
R. de S.	1	27	22	6.5	10.3	34	69 mgs.	320	18 %	Anisocitosis++. Hipocromia+. Microcitosis+.	Hipoplasia+. intermedia+	Megaloplastosis	Negativo
B. de G.	2	30	29	6.6	8.8	26	30 mgs	273	10 %	Microcitosis++++. Hipocromia+.	Producción anormal de pla- quetas (grumos grandes) Hi-		Negativo
E. H.	3	28	30	5.75	10.3	33	35 mgs	362	8.8%	Anisocitosis++. Hipocromia+.	Hiperplasia roja+.		
E. O.	4	24	31	5.0	9.6	30	34 mgs	273	11 %	Anisocitosis++. Hipocromia+.	Hiperplasia roja+.	Negativo	
E. Fuentes	5	29	28	5.75	11.0	36	40 mgs	322	11.1%	Poikilocitos++++. Hipocromia+.	Hiperplasia roja+.	Negativo	
										Microcitosis++. Policromasia+.	Hiperplasia roja+.	Negativo	
R. A.	6	23	29	6.0	5.8	20	32 mgs	273	9.5%	Microcitosis++++. Anisocitosis++. Hipocromia+.	Hiperplasia roja+. Producción anormal de plaquetas (grumos grandes).	Negativo	
M. de M.	7	22	28	6.0	9.4	33	41.4 mgs	367	10.1%	Microcitosis++.	Hipersegmentación+. Metamie- locitos gigantes+. Hipoplasia roja+.	Negativo	
E. de M.	8	34	33	6.5	10.3	31	62 mgs	321	16 %	Anisocitosis++. Hipocromia+.			
I. de H.	9	36	26	5.2	3.1	13	35.1 mgs	690	4.8%	Normoblasto ocasional Hipersegmentación neutro- filos++. Policromasia+. Anisocitosis++++. Poikilo- citos+. Hipocromia y Mi- crocitosis++++.	Hiperplasia microcítica+. Mi- cropolícitos+. Cambios de nor- moblastosis intermedia+.	Negativo	
M. de G.	10	25	28	5.2	10.0	31	81 mgs	9	Sat.	Anisocitosis++++. Hipocromia++++.	Metamielocitos gigantes+. Me- galoblastosis intermedia+. Nor- moblastos+.	Negativo	

BIBLIOGRAFIA

1. CHANARIN I. y otro: Normal formiminoglutamic acid excretion megaloblastic anemia in pregnancy. **The Lancet** 1: 1068, 1963.
2. DAWSON D. W.: The bone marrow picture of folic acid deficiency in pregnancy. **J. Obst. & Gynec. of the British Commonwealth**, 69: 38, 1962.
3. Discussion on the blood in pregnancy. **J. Obst. & Gynec. of the British Commonwealth**, 69: 746, 1962.
4. EDLBACHER S. y otro: **Tratado de química y fisiológica**. Traducción del alemán por L. F. Fernández Sánchez, Aguilar, 1958.
5. HERBERT VICTOR: **The megaloblastic anemias**. Grune & Stratton, 1959.
6. HIBBARD ELIAABETH D.: Figlu excretion a screening test for folic acid deficiency in pregnancy. **J. Obst. & Gynec. of the British Commonwealth** 69: 739, 1962.
7. KNOWELLS J. P. y otros: Simplified method for detecting formiminoglutamic acid in urine as a test of folic acid deficiency. **The Lancet** 2: 343, 1960.
8. LILLIE E. W.: Obstetrical aspects of megaloblastic anemia of pregnancy. **J. Obst. & Gynec. of the British Commonwealth** 69: 736, 1962.
9. SIMONS and CENTZKOW: **Medical and public health laboratory methods**. Lea & Febiger, 1955.
10. SODEMAN WILLIAM A.: **Pathologic physiology mechanism of disease**. W. B. Saunders Company, 1961.
11. L. J. WITTS: The blood in pregnancy. **J. Obst. & Gynec. of the British Commonwealth** 69: 714, 1962.