

COMPARACION DE NIVELES DE FOLATO EN NIÑOS SANOS Y CON ANEMIA FALCIFORME. RESPUESTA HEMATOLOGICA A LA ADMINISTRACION DEL MEDICAMENTO

* Dr. Néstor Martínez Elejalde
* Dra. Julia Oliveira Gómez
* Dr. Elvin Méndez Jiménez
** Dr. Julio Rodríguez Grullón

INTRODUCCION

El interés en la deficiencia de folatos en pacientes con anemias hemolíticas y crónicas y específicamente en anemia falciforme, comenzó al final de la década de los años 50 cuando Jonsson describió una anemia megaloblástica nutricional asociada a la enfermedad homocigótica.

Los hallazgos de Jonsson llamaron la atención a esta complicación de la falcemia, y durante los siguientes 10 años hubo un gran auge en este campo de investigación. Estos estudios culminaron con los hallazgos de Alperin en 1967. El determinó que la anemia megaloblástica se debe a una alteración en la eritropoyesis, producida por depleción de folatos. Presumiblemente, el incremento en la tasa de proliferación celular que caracteriza las anemias hemolíticas aumentaba los requerimientos mínimos de ácido fólico.¹

En pacientes falcémicos se ha podido demostrar evidencia bioquímica de una ligera deficiencia de la vitamina, y se han reportado crisis megaloblásticas cuando la ingesta de

alimentos es interrumpida por enfermedades o crisis dolorosas, o cuando los requerimientos de folato son aumentadas por crecimiento rápido o embarazo. Esto último también se aplica a personas normales.

El uso de suplementación diaria de ácido fólico se popularizó basado en este criterio, pero sin el apoyo de estudios clínicos. Sin embargo, con la publicación de investigaciones subsecuentes se cuestionó el beneficio de esta estrategia terapéutica en la prevención de las manifestaciones hematológicas de la deficiencia de esta vitamina.

Esta controversia se refleja en las diferentes modalidades de tratamiento que existen en los centros de salud de la República Dominicana. En algunos sitios se ha establecido el uso rutinario de ácido fólico en los pacientes falcémicos, mientras que en otros centros se opina que este régimen es de poco beneficio.

En este estudio se intentará determinar si realmente existe una deficiencia de folato en falcémicos homocigotos, comparando los niveles basales de folato intracorpúscular en este primer grupo con los niveles basales de folato intracorpúscular en un grupo control de 30 niños sanos. Se examinará la respuesta de folato intracorpúscular y los cambios hematológicos que puedan ocurrir bajo la administración de este medicamento.

DISEÑO EXPERIMENTAL

A. POBLACION ESTUDIADA

(*) Médicos egresados de la Universidad Nacional Pedro Henríquez Ureña (UNPHU) en Santo Domingo, R.D.

(**) Profesor de hematología, Universidad Nacional Pedro Henríquez Ureña y jefe del servicio de pediatría Hospital Dr. Luis E. Aybar, Santo Domingo.

Para este trabajo se eligieron 60 sujetos de estudio, 30 niños falcémicos homocigotos (no hospitalizados) y 30 niños sanos, todos menores de 15 años de edad.

Los treinta niños falcémicos fueron diagnosticados por electroforesis de hemoglobina, teniendo por lo menos 50% de hemoglobina S y 0% de hemoglobina A; el resto de su hemoglobina está compuesto por hemoglobina A₂ o F.

Los treinta niños para el grupo control se eligieron escogiendo un niño de similar edad, sexo y estrato socio-económico, que no estuviera tomando ninguna medicación por cada niño falcémico.

Las edades del grupo de niños falcémicos oscilaban desde 1 a 15 años. De éstos, 18 eran femeninas y 12 eran masculinos, representando un 60% y 40%, respectivamente, del grupo total. La edad promedio fue 7 años y 8 meses; la edad promedio masculino siendo 7 años y 2 meses y la femenina 8 años y 2 meses. En la electroforesis de hemoglobina, el porcentaje promedio de hemoglobina S fue 74.7%, de hemoglobina F 21.0% y de hemoglobina A₂ 4.3%.

Del grupo control, 18 eran femeninas y 12 eran masculinos, para un 60% y 40%, respectivamente, del grupo total. El rango de edades fue de 1 a 15 años. El promedio de edad fue de 8 años y 2 meses. En los masculinos el promedio fue de 8 años y 4 meses, en las hembras el promedio fue 8 años.

B. METODOS

A cada uno de los sujetos se le hicieron dos tomas de 5cc de sangre con un intervalo de 30 días entre las tomas, durante el cual se le administró 5 mg de ácido fólico diarios.

A la sangre se le hizo los siguientes estudios:

- Conteo de glóbulos rojos
- Concentración de hemoglobina
- Porcentaje del hematócrito
- Volumen corpuscular medio
- Hemoglobina corpuscular media
- Concentración de hemoglobina corpuscular media. Todos estos hechos por medio de un contador electrónico de Coulter para células.
- Conteo de reticulocitos por 100 glóbulos rojos por microscopía usando tinción de azul de metileno.
- Prueba de falcemia por el método de Sickie-Dex. Esta prueba sólo se les realizó a los niños sanos en la primera toma de sangre para descartar que fueran falcémicos heterocigotos.
- Determinación de folato intracorpúsculo por radioinmunoensayo por enlace competitivo a proteína.

Para ejecutar esta última prueba, una cantidad constante de folato radioactivo (I^{125}) se añade a una muestra de sangre que contiene una cantidad desconocida de N⁵-metiltetrafolato. La mezcla se calienta por 15 minutos

(95°C) a un pH de 9.2, lo cual desnaturaliza las proteínas ligadoras de ácido fólico endógenas. Después que la solución se enfría, una cantidad conocida de proteína ligadora de folato es añadida.

Los folatos marcados radioactivamente y los no-marcados compiten por los sitios de enlace específicos de la proteína. Mientras más folato no-marcado esté presente, menos folato no-marcado esté presente, menos folato radioactivo se liga a la proteína de enlace, y viceversa.

Para determinar la concentración de ácido fólico (N⁵-metiltetrafolato) se construye una curva de respuesta progresiva en cuanto a conteos por minuto (C.P.M.) de actividad radioactiva. Esta se obtiene expresando gráficamente los C.P.M. de un standard de folato radioactivo en varias diluciones versus su concentración en papel semilogarítmico. Los C.P.M. de la muestra desconocida se comparan con los del standard y de esta forma la concentración de folato es determinada.

Se tomaron los resultados de estas pruebas antes y después del tratamiento con ácido fólico para ver si ocurriría algún cambio. A los valores de conteo de reticulocitos se les calculó un índice de producción de reticulocitos para corregir por presencia de anemia y por liberación precoz de reticulocitos de la médula ósea. La fórmula para este índice es:

$$I_{Pr} = \frac{\% \text{ de reticulocitos}}{\text{Tiempo de maduración de reticulocitos (en días)}} \times \frac{\text{Hematócrito}}{47}$$

El tiempo de maduración se define como:

- 1 día para 45% de Hematócrito
- 1.5 días para 35% de Hematócrito
- 2 días para 25% de Hematócrito
- 2.5 días para 15% de Hematócrito.

A estos valores se les calculó:

- Media aritmética
- Desviación standard
- Proporción crítica
- Prueba T para muestreo independiente.

Se utilizó una tabla de porcentajes de la distribución normal que se cortaba en los dos extremos al 95% del nivel de confianza.

D. VALORES NORMALES

Para este estudio, los siguientes valores fueron considerados dentro de los límites normales:

- Eritrocitos ($\times 10^6$): masculinos: 5.4 ± 0.7
femeninos: 4.8 ± 0.6
- Hemoglobina (G/dl): masculinos: 16.0 ± 2
femeninos: 14 ± 2

3. Hematócrito (%):	masculinos: 47 ± 5. femeninos: 42 ± 5.
4. Volumen corpuscular medio (u ³):	masculinos: 87 ± 7. femeninos: 90 ± 9.
5. Hemoglobina corpuscular media (Pg):	masculinos: 29 ± 2. femeninos: 29 ± 2.
6. Concentración de Hemoglobina corpuscular media (G/dl):	masculinos: 35 ± 2. femeninos: 35 ± 2.
7. Conteo de reticulocitos	0.5 a 1.5%
8. Acido fólico intra-corpuscular (ng/ml):	160 a 650.

RESULTADOS

Los resultados de determinación de folatos por radioinmunoensayo fueron los siguientes: en los falcémicos el valor inicial de folato intracorporal osciló entre 116 y 621 ng por ml, con un promedio de 255.2 ng por ml (D.S. ± 107.2 ng por ml). Después del tratamiento, los valores oscilaron entre 147 y 792 ng por ml, para un promedio de 334.3 ng por ml, lo cual representó un aumento en los folatos intracorporales de 79.12 ng por ml (± 118.6 ng/ml) (ver tabla No. 1).

En el grupo control, los valores de folatos intracorporales antes del tratamiento variaron entre 124 y 481 ng/ml, para un promedio de 258.9 ng/ml (± 134 ng/ml). Después del tratamiento, los valores se encontraron entre 183 y 812.8 ng/ml, para un promedio de 319.6 ng/ml, lo cual representó un aumento de folato intracorporal equivalente a 71.2 ng/ml (± 164.7 ng/ml) (ver tabla No. 2).

Los resultados promedios de los valores hemáticos antes del tratamiento para los falcémicos fueron los siguientes: el Ht. fue de 28.26% ± 7.78, y 28.02 ± 4.92 después del tratamiento, representando una reducción en el hematócrito promedio de 0.24% ± 1.85 (ver tabla No. 3). El VCM promedio antes del tratamiento fue 87.24 u³ ± 4.77; después del tratamiento ésta bajó a 85.57 u³ ± 7.53, representando una reducción de 1.67 u³ ± 3.40. La concentración promedio de hemoglobina (Hb) fue 9.18 G/dl ± 2.57 antes del tratamiento. Después del tratamiento, la Hb ascendió a 9.21 G/dl ± 2.30, representando un aumento de 0.02 G/dl ± 0.58.

El conteo de eritrocitos antes del tratamiento dio un promedio de 3.37 x 10⁶/mm³ ± 1.20. Después de ser tratados, el conteo subió a 3.39 x 10⁶/mm³ ± 1.07, representando un cambio de 0.02 x 10⁶/mm³ ± 0.30.

Tabla 1
NIVELES DE ACIDO FOLICO (ng/ml)
EN NIÑOS FALCEMICOS

No. DEL PACIENTE	ANTES DEL TRATAMIENTO	POST TRATAMIENTO	CAMBIO
1	206.0	271.0	+ 65.0
2	182.0	477.0	+ 295.0
3	217.7	409.0	+ 191.3
4	329.0	257.0	+ 72.0
5	166.0	351.0	+ 185.0
6	140.2	209.0	+ 68.8
7	240.0	277.0	+ 37.0
8	203.0	246.0	+ 43.0
9	214.0	336.0	+ 122.0
10	218.0	227.0	+ 9.0
11	414.9	290.0	-124.9
12	245.8	455.7	+ 209.9
13	221.0	248.7	+ 427.7
14	128.7	323.0	+ 294.3
15	344.0	256.0	+ 88.0
16	381.8	453.0	+ 71.2
17	621.0	792.0	+ 171.0
18	240.0	454.0	+ 214.0
19	305.0	428.0	+ 123.0
20	211.8	242.0	+ 30.2
21	426.8	295.9	-130.9
22	237.0	438.0	+ 201.0
23	183.7	326.7	+ 143.0
24	303.6	327.8	+ 24.2
25	376.0	359.0	+ 17.0
26	181.0	167.6	- 13.4
27	116.0	147.0	+ 31.0
28	212.8	270.0	+ 57.2
29	179.0	222.0	+ 43.0
30	210.9	374.5	+ 163.6
PROMEDIO	255.2	344.3	+ 79.12
DESVIACION STANDARD	107.2	114.6	118.6

Tabla 2
NIVELES DE ACIDO FOLICO (ng/ml)
EN PACIENTES CONTROLES

No. DEL PACIENTE	ANTES DEL TRATAMIENTO	POST TRATAMIENTO	CAMBIO
1	489.0	812.8	+323.8
2	397.0	328.6	- 68.4
3	197.0	261.8	+ 64.8
4	129.8	301.6	+171.8
5	55.7	488.0	+432.3
6	154.0	262.5	+108.5
7	318.0	252.0	- 66.0
8	208.5	260.0	+ 51.5
9	197.6	183.0	- 14.6
10	223	307.9	+ 84.9
11	305.6	378.0	+ 72.4
12	168.0	300.7	+132.7
13	200.5	378.8	+178.3
14	138.6	295.0	+156.4
15	409.0	313.0	- 96.0
16	235.0	460.0	+225.0
17	262.0	296.6	+ 34.6
18	204.8	273.7	+ 68.5
19	165.6	436.0	+270.4
20	80.0	357.0	+277.0
21	143.0	277.0	+134.0
22	302.0	306.8	+ 4.8
23	440.0	405.7	- 34.3
24	126.0	343.0	+217.0
25	261.8	273.0	+ 11.2
26	124.0	371.6	+247.6
27	476.0	274.0	-202
28	544.0	223.0	-321
29	491.0	403.0	- 88.0
30	319.0	411.0	+ 92.0
PROMEDIO	258.9	319.6	71.21
DESVIACION STANDARD	134	166.7	164.7

La HCM fue de $28.23 \text{ pG} \pm 4.04$ antes del tratamiento. Después del tratamiento el valor fue $27.80 \text{ pG} \pm 3.76$, representando una reducción de $0.39 \text{ pG} \pm 1.79$ (ver tabla No. 3).

La CHCM fue $32.50 \text{ G/dl} \pm 2.25$ antes de ser tratados, la cual subió después del tratamiento a $33.18 \text{ G/dl} \pm 1.59$. Esto representó un cambio de $0.68 \text{ G/dl} \pm 2.24$.

El conteo promedio de reticulocitos en los falcémicos antes del tratamiento promedió 9.03% y disminuyó a 8.99% después del tratamiento. Cuando se aplicó la fórmula para la determinación del Índice de Producción de Reticulocitos (IPR), se determinó que éste era un promedio 2.13 ± 1.50 antes del tratamiento, y 2.18 ± 1.56 después del tratamiento, representando un aumento de 0.05 ± 0.77 .

Los resultados promedios de los valores hemáticos en el grupo control fueron los siguientes (ver tabla No. 4): el Ht. promedió $39.18\% \pm 3.48$ antes del tratamiento, y $39.75\% \pm 3.61$ después del tratamiento, representando un aumento de $0.57\% \pm 1.91$.

El VCM antes del tratamiento promedió $82.43 \text{ u}^3 \pm 4.55$; después del tratamiento, éste disminuyó a $82.20 \text{ u}^3 \pm 6.02$, representando una reducción de $0.23 \text{ u}^3 \pm 2.10$.

La concentración promedio de Hb fue $12.98 \text{ G/dl} \pm 1.44$, representando un aumento de $0.17 \text{ G/dl} \pm 0.16$.

El conteo de eritrocitos antes del tratamiento dio $4.79 \times 10^6/\text{mm}^3 \pm 0.39$, y aumentó a $4.89 \times 10^6/\text{mm}^3 \pm 0.32$, con un cambio de $0.11 \times 10^6/\text{mm}^3 \pm 0.24$.

La HCM fue de $25.75 \text{ G/dl} \pm 2.12$ antes del tratamiento. Después del tratamiento, el valor fue de $26.86 \text{ G/dl} \pm 2.21$. Esto representó un aumento de $0.07 \text{ G/dl} \pm 1.30$.

La CHCM fue $32.69 \text{ G/dl} \pm 0.92$ antes del tratamiento, la cual subió después del tratamiento a $33.41 \text{ G/dl} \pm 1.19$, representando un cambio de $0.67 \text{ G/dl} \pm 1.46$.

El conteo de reticulocitos en los controles antes de iniciar el tratamiento. La determinación del IPR promedió 0.72 ± 0.44 antes del tratamiento y 0.75 ± 0.27 después del tratamiento. Esto representó un aumento de 0.04 ± 0.22 .

DISCUSION

En 1961, Lindenbaum y Klipstein reportaron déficit de ácido fólico en una mujer con anemia falciforme.² En 1967, Alperin reportó una médula ósea megaloblástica en una muchacha de raza negra de 16 años de edad.¹ López (1973) describió la condición en un niño de 10 años de edad.³

En todos estos pacientes se detectó una deficiencia recurrente de ácido fólico, caracterizada por niveles subóptimos de folato intracorpúscular y una excreción urinaria de FIGLU aumentada. Los tres pacientes respondieron favorablemente a la administración de ácido fólico.

La suplementación resultó en un aumento en el folato intracorporal, disminución del ácido formiminoglutámico (FIGLU), respuesta favorable en el conteo de reticulocitos y cambios en la médula ósea de un estado megaloblástico a normoblástico.

En su estudio, López (1973) también reportó una res-

puesta favorable de su paciente en cuanto a aumento de peso corporal y condición general.³ Sin embargo, un estudio controlado llevado a cabo por Purugganan (1971) en 16 pacientes con anemia hemolítica crónica (12 de los cuales eran falcémicos) no demostró diferencia significativa entre el grupo de estudio y el grupo control en cuanto a

Tabla 3

MEDIAS ARITMETICAS, DESVIACIONES STANDARD Y CAMBIOS DE VALORES HEMATICOS EN EL GRUPO DE FALCEMICOS

	ANTES DE TRATAMIENTO		DESPUES DE TRATAMIENTO		CAMBIOS	
	\bar{X}	D.S.	\bar{X}	D.S.	\bar{X}	D.S.
Hematócrito	28.26 %	7.78	28.02	4.92	-0.24	1.85
Volumen Corpuscular Medio	87.24 m ³	4.77	85.57	7.53	-1.67	3.40
Hemoglobina	9.18 G %	2.57	9.21	2.30	0.02	0.58
Eritrocitos	3.37 millones/ mm ³	1.20	3.39	1.07	0.01	0.30
Hemoglobina Corpuscular Media	28.23 pG %	4.04	27.80	3.76	-0.39	1.79
Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media	32.50 G %	2.25	33.18	1.59	0.68	2.24
Indice de Producción de Reticulocitos	2.13	1.50	2.18	1.56	0.05	0.77

Tabla 4

MEDIAS ARITMETICAS, DESVIACIONES STANDARD Y CAMBIOS DE VALORES HEMATICOS EN EL GRUPO CONTROL

	ANTES DE TRATAMIENTO		DESPUES DE TRATAMIENTO		CAMBIOS	
	\bar{X}	D.S.	\bar{X}	D.S.	\bar{X}	D.S.
Hematócrito	39.18 %	3.48	39.75	3.61	0.57	1.91
Volumen corpuscular medio	82.43 m ³	4.55	82.20	6.03	-0.23	2.10
Hemoglobina	12.98G%	1.32	13.16	1.44	0.17	0.01
Eritrocitos	4.79 millones mm ³	0.39	4.89	0.32	0.11	0.24
Hemoglobina cospuscular media	25.75 pG%	2.12	26.86	2.21	0.07	1.30
Concentración de hemoglobina cospuscular media	32.69G %	0.92	33.41	1.19	0.67	1.46
Indice de producción de reticulocitos	0.72	0.44	0.75	0.27	0.04	0.22

niveles basales de folato intracorporal o excreción de FIGLU.⁴ Además, estudios posteriores realizados por Rabb (1983) en 117 niños falcémicos homocigotos no demostraron cambios significativos en aumento de peso, incidencia de infección o cambios hematológicos.⁵

En la presente investigación, los niveles basales de folato intracorporal en el grupo de falcémicos tuvieron un promedio más bajo que los del grupo control. Sin embargo, esta diferencia fue de poca magnitud, y no se tradujo a una diferencia estadísticamente significativa.

Este estudio demostró un aumento significativo en el nivel de folato intracorporal de ambos grupos después del período de tratamiento. Sin embargo, no hubo diferencia significativa estadísticamente en la magnitud de este aumento entre los dos grupos. Los resultados probablemente son atribuidos a la sobrecarga de ácido fólico que se proporcionó durante el período de estudio, y no representan un incremento en la absorción producto de un estado de deficiencia.

Finalmente, se debe mencionar que los valores de folato intracorporal promedio permanecieron dentro de los límites normales establecidos, tanto antes como después de la prueba terapéutica.

CONCLUSIONES

1. No hubo diferencias significativas en los niveles de

folato intracorporal en un grupo de 30 pacientes con anemia falciforme (SS) y 30 pacientes de un grupo control. Pacientes todos en la edad pediátrica.

2. No hubo respuesta hematológica significativa a la administración de 5 mg de Acido Fólico diario en ninguno de los dos grupos.

3. Este trabajo ofrece evidencias de que la administración rutinaria de Acido Fólico a niños afectados de anemia falciforme (SS) es injustificada.

BIBLIOGRAFIA

1. Alperin, J.B.: Folic Acid Deficiency Complicating Sickle Cell Anemia. *Archives of Internal Medicine*, 1967, Vol. 120, 198-306.
2. Linderbaum, J., y Klipstein, F.K.: Folic Acid Deficiency in Sickle Cell Anemia. *The New England Journal of Medicine*, 1961, Vol. 265, 1033-1038.
3. López, R.; Shimizu, N., y Cooperman, J.M.: Recurrent Folic Acid Deficiency in Sickle Cell Disease. *The American Journal of Diseases of Children*, 1971, Vol. 122, 48-52.
4. Purugganan, G.; Leikin, S., y Gautier, G.: Folate Metabolism in Hyperplastic and Hypoplastic States. *The American Journal of Diseases of Children*, 1971, Vol. 122, 48-52.
5. Rabb, L.M., y Grandison, Y.: A Trial of Folate Supplementation in Children with Homozygous Sickle Cell Disease. *British Journal of Haematology*, 1983, Vol. 54 (4), 589-594.