

1.<sup>a</sup> CLÍNICA MÉDICA DA FACULDADE DE MEDICINA DE S. PAULO

(Prof. Octávio Rodovalho)

LABORATÓRIO CENTRAL DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS

(Dr. Gastão Fleury da Silveira)

*Secção de Hematologia*

(DR. MICHEL JAMRA).

## ÁCIDO FÓLICO E EXTRATO HEPÁTICO

### *Considerações sôbre o modo de ação*

FERNANDO TEIXEIRA MENDES

Desde a descoberta da atividade antianêmica dos extratos hepáticos, inúmeros trabalhos apareceram sôbre o tratamento das anemias em que o aparecimento de megaloblastos constitúe a parte dominante do quadro hemático.

Dois agentes (extrato hepático, pelo seu princípio anti-anêmico e ácido fólico) são realmente ativos. O seu modo de ação é pouco conhecido, senão mesmo desconhecido.

Frequentemente temos que recorrer a trabalhos de revisão para nos colocarmos ao par da literatura.

Contribuição neste sentido é a tese de livre docência de Michel Abu Jamra (1) que além da conexão entre os dados esparsos de numerosos autores investiga o mecanismo citológico através do qual atúa o extrato hepático. Berry e Spies (2) reviram as contribuições mais importantes sôbre o ácido fólico até 1946; Cartwright (3) condensou os dados de 665 trabalhos sôbre fatores alimentares na eritropoiése.

A consulta de alguns trabalhos despertou-nos o interêsse em fazermos uma comparação entre os efeitos terapêuticos dos 2 agentes bem como as possíveis relações. Entre os mesmos, a partir de dados apresentados pelos autores nas publicações consultadas.

A — *Ação do extrato hepático* —

---

(\*) Jukes, T. H., Stokstad, L. R. (Physiol. Rev., 28, 51, 1948) publicaram um trabalho de revisão sobre o ácido pteroilglutâmico e compostos afins citando 306 trabalhos.

Quando se empregam extratos hepáticos de boa procedência e em doses adequadas, observam-se, nos doentes de anemias megaloblásticas (A.P., macrocítica da gravidez, macrocítica tropical, etc.) as seguintes modificações:

1.º — *Na medula óssea* — transformação total ou parcial de uma medula megaloblástica em uma normoblástica, começando a modificação entre 24-48 horas após o início da terapêutica e chegando a ser completa, nos casos que respondem bem, entre 72 e 96 horas (in 4).

As séries grânulo e megacariocitária sofrem também alterações, no sentido de uma normalização. O nosso propósito, todavia, é apenas analisar as modificações da eritropoiése.

2.º — *No sangue circulante a* — *Crise reticulocitária* que coincide ou séguese logo após à transformação eritroblástica da medula. A época em que se dá é entre o 2.º e 10.º dias de tratamento sendo que o ápice atinge 40-45 % quando a anemia é intensa.

A duração da crise é variável, voltando progressivamente ao normal.

b — *Aumento dos eritrócitos* que se inicia logo depois ou ainda durante a crise, chegando à normalidade decorridos 60-90 dias de tratamento (in 1).

#### B — *Substâncias do grupo dos "fatores de crescimento" para o LACTOBACILLUS CASEI.*

Este grupo compreende numerosas substâncias que inicialmente foram estudadas por grupos diversos de autores e sob aspectos diferentes; assim, elas foram investigadas sob um ou vários dos aspectos seguintes: atividade microbiológica, comportamento em determinados síndromes de carências animais e humanos. Hoje sabemos que várias delas têm composição química e atividade biológica muito semelhantes. Como ação característica do grupo está a influência sobre o crescimento do *L. casei*. Damos a seguir, um quadro-resumo dos fatores de crescimento para o *L. casei*, os autores que os isolaram, as fontes, atividade biológica e as estruturas químicas possivelmente responsáveis pela atividade (quadro n.º 1).

Destas substâncias, vamos nos deter no estudo da ação do "fator de crescimento para o *L. casei*":

Este fator já foi sintetizado e o produto sintético é, praticamente, o único empregado na clínica. É o "ácido fólico" ou ácido pteroil-glutâmico, denominações que empregaremos, indistintamente, ao ácido livre.

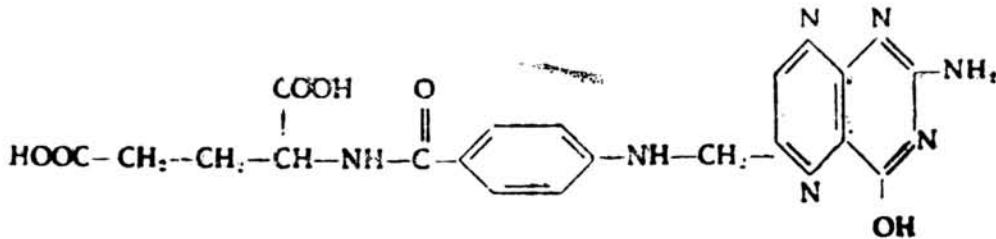
Fator	Autores	Fonte	Atividade biológica	A atividade é devida
Fator e luido da norita.	Snell e Peterson	Fígado, levedo	L. casei = S. lactis R.	Ácido pteroilglutâmico
Fator do L. casei (Fig)	Stokstad	Fígado	" " " "	" "
Acido fólico	Mitchell, Snell e Williams	Espinafre	" " " "	Ácido pteroilglutâmico?
Fator do S. lactis R.	Keresztesy, et al.	Fígado	S. lactis R > L. casei	Ácido ptericoico?
Fator do levedo	Stokstad	Levedo	L. casei > S. lactis R.	?
Fator de fermentação	Hutchings, et al.	N. estabelecida	L. casei > S. lactis R.	Ácido pteroilglutâmico.
Vitamina M	Day, Langstom, Shukers	Fígado e Levedo.	Macaco.	Ácido pteroilglutâmico.
Xantopterina	Simmons, Norris	Sintética	Salmão.	Relacionada quimicamen- te ao ácido pteroilglu- tâmico.
Vitamina Bc	Hogan, Parrott	Fígado	Pinto.	Ácido ptericoico.
Conjugado de Bc	Binkley, et al.	Levedo	Pinto.	Ácido pteroilglutâmico.
Conjugado de Bc	Mims, et al.	Fígado		Estrutura não conhecida
Vitamina B10	Briggs, et al.	Fígado	Pinto.	Ácido pteroilglutâmico.
Vitamina B11	Briggs, et al.	Fígado	Pinto.	Ácido pteroilglutâmico.
Piracina.	Scott, et al.	Sintética	——	
Timina.	Spies, et al.	Sintética.	Homem; S. lactis R.	

## QUADRO N.º 1

Blood, 2, 121, 1947.

Na natureza êle existe sob a forma *conjugada* com radicais determinados, necessitando ser liberado da *conjugação* para o organismo poder aproveitá-lo.

A fórmula química do ácido livre segundo Angier e cols. (5) é:



A ação do ácido pteroil-glutâmico se faz sentir como segue:

1.º — *Na medula óssea*: vários autores constataram uma modificação da eritropoiese após a administração do ácido fólico. Todavia, o início de tal transformação, e o período em que se faz por completo, não estão bem estudados. Entre os pesquisadores estão Spies (6) e Hall e Watkins (7). Meyer (8) refere uma diminuição marcada dos megaloblastos da medula após 12 dias de tratamento; os 2 últimos AA. (6 e 7) citados referem que o desaparecimento total é após 7 — 10 dias.

2.º — *No sangue circulante*: a) *Crise reticulocitária*: Há um ápice mas geralmente não tão pronunciado como o determinado pelo extrato hepático. Consultando dados de Spies (6) verificamos que o máximo foi de 31,8% em 1 caso de esprú. A média estava em torno de 18%. De um modo geral era paralela à dose empregada. O dia de aparecimento variava entre 3 e 12 dias após o início, sendo a freqüência máxima entre 6 e 7 dias. b) *Aumento dos eritrócitos*: o aumento não é tão rápido e em geral não chega a cifras 100% normais (8) Spies (6) acha que o aumento é tão pronunciado quanto o determinado pelo extrato hepático. A consulta de seus dados não nos conduziu à mesma conclusão.

## DISCUSSÃO

Da análise dos resultados obtidos com o extrato hepático e o ácido fólico, podemos concluir que embora não haja perfeita superposição dos mesmos, pelo menos são semelhantes em suas linhas gerais. São êles: 1.º redução dos megaloblastos da medula óssea; 2.º Crise reticulocitária; 3.º aumento numérico dos eritrócitos.

Que relações existem entre os 2 agentes? seria o ácido pteroilglutâmico o “princípio ativo” contido nos extratos hepáti-

cos? seriam 2 agentes independentes cuja ação final é semelhante? ou o p.a.a. e o ácido fólico fariam parte de um sistema que necessita de sua ação conjunta para funcionar?

Que o ácido fólico não é o princípio ativo dos extratos hepáticos purificados prova-o a pequena proporção em que êle existe em tais extratos; Clark (9) verificou que 1 unidade U.S.P. de extratos comerciais contém de 0,25 a 0,50 microgramos de ácido pteroilglutâmico. Outros autores encontraram em média, 0,38 microgramos por unidade (10). Embora não haja estudos sistematizados, sabe-se que a quantidade mínima, para 1 resposta satisfatória, de ácido fólico é de 5 a 10 miligramas diários (11, 12), em contraste com as poucas unidades de extrato purificado necessárias para uma resposta semelhante que conteriam quantidade mínima de ácido.

Quanto ao "sistema" mencionado, vários são os fatos a favor de sua existência. Vimos que o ácido fólico existe sob a forma conjugada na natureza.

Normalmente o organismo dispõe de "conjugases" aptas a libertarem o ácido. Spies (2) supõe que o ácido fólico esteja armazenado no organismo sob a forma conjugada. O "princípio ativo" dos extratos hepáticos agiria no sistema, regulando a ação das conjugases, permitindo a libertação do ácido. Fatos interessantes quanto ao "sistema enzimático" são os relacionados com a excreção do ácido pteroilglutâmico. Welch, Heinle, Nelson e Nelson (11) verificaram que pacientes com anemia perniciosa excretam pouco ácido fólico livre, ao passo que os mesmos, após administração de extrato hepático purificado, tinham a excreção aumentada de 100%. Bethell e cols. (12) verificaram, em indivíduos ingerindo conjugado hexaglutâmico em um concentrado contendo inibidor de conjugase, que a excreção é maior nos normais e nos com anemia macrocítica nutricional. (que se assemelham aos primeiros do ponto de vista da excreção); nos anêmicos perniciosos a excreção é menor. A administração do extrato conduz ao aumento de excreção. Isto falaria a favor da ausência ou deficiência de substâncias que liberam o ácido de seu conjugado ou, ainda, da presença de inibidores das conjugases na A. P., anomalias estas sanadas pelo extrato hepático.

De posse destes dados, torna-se difícil admitirmos uma ação isolada dos 2 agentes, que foi uma das hipóteses aventadas.

Como agiriam em suma o ácido pteroilglutâmico e o extrato hepático?

O extrato hepático contém princípio antianêmico que é formado pela interação de *fatôr extrínseco* (alimentos ricos em complexo B) e *fatôr intrínseco* (produzido pela mucosa do estômago); o ponto onde se dá a reação é discutido. Êle é armazenado no fígado. O mecanismo íntimo de ação do princípio anti-anêmico não é bem conhecido. Após a ação do mesmo constata-

se uma modificação do tipo de eritropoiése, tanto da morfologia das células como dos caracteres de sua maturação ulterior.

Como o metabolismo celular está tão intimamente ligado com o dos ácidos nucléicos, poderíamos supôr uma ação do p.a.a. sôbre o mesmo. Onde estaria, então, o "momento de ação" do ácido pteroilglutâmico? vimos que após administração do extrato a anêmicos perniciosos havia aumento da excreção do ácido; foi aventada a hipótese de que o extrato iria normalizar o sistema de conjugases que agem sôbre o conjugado, permitindo a libertação do pteroilglutâmico livre. Seria, então, êste o corpo ativo em relação aos ácidos nucléicos. Spies (13) verificou que a timina, que é uma base pirimídica, tem propriedades anti-anêmicas transformando a medula de megaloblástica em eritroblástica, com crise reticulocitária e aumento posterior de eritrócitos. Berry e Spies (2) chamam a atenção para o fato de ser a timina parte integrante da molécula do ácido timonucléico e para a importância dos ácidos nucleicos no metabolismo celular. Spies (in 2) verificou, também, que são necessárias 1.200 vêzes mais timina que ácido fólico para a obtenção dos mesmos resultados hemáticos. Baseado nisto, Spies (13) levantou a hipótese de que o ácido fólico agiria como coenzima na síntese de timina ou de 1 composto semelhante a ela. Vemos, dêste modo, um aceno da influência provável do ácido pteroilglutâmico no metabolismo celular e mais particularmente no dos ácidos nucléicos e suas relações possíveis com o princípio anti-anêmico dos extratos hepáticos.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1 — JAMRA, Michel — *Contribuição para o estudo hematológico e clínico da Anemia Perniciosa*. Têse de Docência-Livre. São Paulo, 1947.
- 2 — BERRY, L. J. e SPIES, T. D. — *The present status of folic acid*. Blood, 1, 271, 1946.
- 3 — CARTWRIGHT, G. E. — *Dietary factors concerned in erythropoiesis*. Blood, 2, 111, 1947.
- 4 — JAMRA, Michael — *Sôbre as modificações citológicas precoces determinadas pela hepatoterapia na medula óssea na anemia perniciosa*. An. Fac. Med. Univ. S. Paulo, 17 (tomo I), 193, 1941.
- 5 — ANGIER, R. P., BOOTHE, J. H., HUTCHINGS, B. L., MOWAT, J. H., SEMB, J., STOKSTAD, E. L. R., SUBBA ROW Y., WALLER, C. W., CONSULICH, D. B., FAHRENBACH, M. J., HULTQUIST, M. E., KUH, E., NORTHEY, E. H., SEEGER, D. R., SICKELS, J. P. and SMITH, J. M. Jr. — *The structure and synthesis of the liver L. casei factor*. Science, 103, 667, 1946.
- 6 — SPIES, T. D. — *Effect of folic acid in persons with macrocytic anemia in relapse*. J.A.M.A., 130, 474, 1946.
- 7 — HALL, B. E. e WATKINS, C. H. — *Experience with pteroylglutamic (synthetic folic) acid in the treatment of Pernicious Anemia*. The Jour. of Lab. and Clin. Med., 32, 622, 1947.
- 8 — MEYER, L. M. — *Folic acid in the treatment of Pernicious Anemia*. Blood, 2, 50, 1947.

- 9 — CLARK, G. W. — **Vitamin content of liver extracts for parenteral use.** Am. J. Med. Sci. 209, 520, 1945.
- 10 — KLEN, D. — in Moore, C. V. Bierbaum, O. S., Welch, A. D. and Wright, L. D. — **The activity of synthetic lactobacillus casei factor as an anti-pernicious anemia substance** J. Lab. and Clin. Med, 30, 1056. 1945.
- 11 — WELCH A. D., HEINLE R W., NELSON E. M. e NELSON, N. V — **Ineffective utilization of conjugated pteroylglutamic (folic) acid in pernicious anemia.** J. Biol. Chem., 164, 787. 1946.
- 12 — BETHELL F. H., MEYERS M. C., GOULD, A. A., SWENDSEID, M. E., BIRD. O. D. BROWN, R. A. — **Metabolic function of pteroylglutamic acid and its hexaglutamyl conjugate.** The J. of Lab. and Clin. Med. 32, 3. 1947.
- 13 — SPIES, T. D., FROMMEYER W. B. Jr., Vilter, C. F English, A. A. **properties of thymine.** Blood 1, 185, 1946.