

Acción de la vitamina B y de la insulina en las alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono en la avitaminosis B

POR

J. A. COLLAZO y C. PI-SUÑER BAYO*

Uno de nosotros (1) ha demostrado, en una larga serie de investigaciones (1922-1930), que en la avitaminosis B, en aves y mamíferos, con simple régimen de arroz o dieta mixta, existe un conjunto de alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono, que predominan sobre el cuadro de la enfermedad experimental, y cuyos caracteres son diferentes de los de la diabetes. Estas alteraciones, semejantes a la diabetes, han sido ya de tiempo mencionadas también por A. Pi-Suñer (2). Sin embargo, la teoría del origen de la avitaminosis B en alteraciones primitivas y específicas del metabolismo de los hidratos de carbono es todavía una hipótesis, aunque con numerosos hechos a su favor. Mientras no se disponga de un preparado puro de vitamina B, faltarán las experiencias directas y definitivas, de manera que no se descarta la posibilidad de otras causas. Así y todo, los estudios ya bien numerosos sobre el metabolismo del azúcar representan la contribución más importante al conocimiento de la patogenia de la avitaminosis B y de su mecanismo de acción. Las dificultades para deducir conclusiones firmes residen en el progreso constante de estos estudios, obligando día por día a corregir las interpretaciones esquemáticas o aventuradas.

En la primera etapa de estos ensayos se ha estudiado la avitaminosis B en animales sometidos a una dieta despojada de tal vitamina, y en los cuales se han descrito las manifestaciones clínicas, se han investigado el metabolismo, la duración de la vida, etc.

Comunicación al Primer Congreso Internacional de Biología de Montevideo (8-12 de octubre de 1930).

Sintetizando los resultados ya adquiridos, podemos dividir en seis grupos las investigaciones realizadas sobre el metabolismo de los hidratos de carbono en la avitaminosis B.

1.º Ensayos de dietas de Ejkmann (3), Braddon y Cooper (4), Funk (5), Collazo (6), Tasawa (7), Tcherkes (8), Randoín y Simonet (9), Funk y Collazo (10), etc., etc., demostrando que los accidentes crónicos, agudos y la muerte por beri-beri son más graves y precoces, aumentando la dosis de hidratos de carbono de la ración; y que a dosis mayores de hidratos de carbono corresponde un aumento paralelo de la necesidad de vitamina B.

2.º Los ensayos bioquímicos de Collazo (11), Sinhoda (12), Collazo y Rubino (13), Abderhalden (14), Paladin (15), Alpern (16), Kogan (17), Koudroesewska (18), Chahovitch (19), Randoín y Simonet (20), Bickel (21), Simhizu (22), Kauffmann-Cosla (23), Rosenwald (24), Collazo y Munilla (25), Fisher (26), Borghi (27), Pugliesse (28), Usuelli (29), Eggleton y Gros (30), Negri (31), Sure (32), Stucky (33), Kon (34), Pelezar (35), J. Pi-Suñer Bayo y M. Ferrán (36), etc., etc., indican en la avitaminosis B una disminución de la tolerancia para los hidratos de carbono, hiperglucemia precedida de una fase de hipoglucemia, glucosuria provocada, empobrecimiento del glucógeno hepático, muscular y cardíaco aumento de la *carbonuria disoxidativa* y de la *lactaciduria*, etc.; diferenciándose de la diabetes por la falta de *glucosuria espontánea* y de *acidosis*.

3.º Los ensayos farmacológicos de Collazo y Ghose (37), Bickel y Collazo (38), Alpern y Collazo (39), Koudrouziewska (18), Kauffmann (40), Onohara (41), Rosenwald (24), Collazo, Varela, Rubino y Munilla (25), etcétera, con sustancias que modifican el metabolismo de los azúcares, tales como la tiroidina, adrenalina, hipofisina, insulina, revelan una disminución, en la avitaminosis, de la sensibilidad para ellos; en cuanto a la hormona pancreática, mejora algunos síntomas, sin curar la enfermedad.

4.º Ensayos comparativos con la acción de otras vitaminas, de Collazo (42), Kon (43), Roche (44), etc., revelan que las alteraciones de la avitaminosis B no sufren modificación alguna agregando a la dieta cantidades apreciables de otras vitaminas; siendo, por el contrario, siempre positiva la influencia de alimentos o preparados ricos en vitamina B, que obra de una manera selectiva sobre las mencionadas alteraciones de los azúcares.

5.º Los ensayos de Collazo y Sosa (45) sobre la acción de la vitamina B en las alteraciones de la glucogenia en el metabolismo de las palomas en avitaminosis constatan el rol glucogénico del autolizado de levadura, así como su efecto más general, regulando el metabolismo de los hidratos de carbono, acompañado de la curación completa de los animales.

6.º Los ensayos de interpretaciones clínicas, favorables a la existencia de la avitaminosis *B*, infantil, por defectos de alimentación en la primera infancia (pobreza en vitamina *B* : leches condensadas, harinas, preparados diversos), causante de las distrofias gastrointestinales, cuyo mecanismo patogénico radica en una alteración profunda del metabolismo hidrocarbonado, con hipergluemia, hipoglucoemia, enflaquecimiento, diarrea verde, acidosis y muerte convulsiva, con gran descenso de la temperatura y evidentes signos de intoxicación hepática o hipoglucoemia.

Este grupo de hechos biológicos que hablan a favor de una alteración grave de la nutrición, con predominio de los azúcares, ha sido estudiado por numerosos autores : pero en la mayoría de los casos consiste en observaciones patológicas negativas, es decir, en animales desprovistos de vitamina *B*. El número de los trabajos fisiológicos destinados a estudiar el efecto de la vitamina *B*, en forma de su preparado más puro, sobre la enfermedad de utilización del azúcar, que acompaña a la avitaminosis, es aún relativamente escaso. (Collazo y Sosa (45), Pugliese (46) y Negri (31).

El presente trabajo tiene por objeto el insistir de nuevo acerca de la acción fisiológica de la vitamina *B* sobre el metabolismo patológico de los azúcares, utilizando varios preparados, y comparándola con la de la insulina en iguales condiciones.

En general, hemos tratado de completar nuestros conocimientos tomando como punto de partida las investigaciones ya realizadas; y al comentar los resultados intentaremos, en particular, dilucidar la influencia y la naturaleza del efecto de la vitamina *B* y de la insulina sobre el complicado cuadro patológico del beri-beri experimental.

EXPERIENCIAS

Se emplearon, en total, treinta y tres palomas jóvenes, de seis a ocho meses y de 260 a 300 gr. de peso, procedentes de distinto criadero, divididas en seis lotes y alimentadas con arroz pulido y agua adicionada de mezcla de sales, siendo sacrificadas entre los veinte y treinta días de avitaminosis, en el período grave de la enfermedad y presentando los síntomas clínicos principales : pérdida de peso, diarrea verde, falta de apetito, desequilibrio en la marcha, insuficiencia funcional para volar, etc.

En la sangre, recogida por sangría de las carótidas, en los músculos pectorales y en el hígado, efectuamos, en las distintas condiciones experimentales, los siguientes análisis:

I. *Glucemia, lactacidemia y glutacionemia.*

II. *Glucógeno, ácido láctico y ácido fosfórico en el hígado.*

III. *Glucógeno, ácido láctico y ácido fosfórico en el músculo.*

Los seis lotes de palomas fueron distribuidos de la manera siguiente:

1.º Lote de control, de palomas normales, alimentadas con granos enteros de arroz.

2.º Avitaminosis *B* en palomas alimentadas con arroz pulido.

3.º Avitaminosis *B*, tratando a los animales, durante cinco días seguidos antes de su muerte, con 1 cc. de autolizado de levadura de cerveza.

4.º Avitaminosis *B*, tratando a los animales, durante cinco días seguidos antes de su muerte, con 2 unidades de insulina.

5.º Avitaminosis *B*, tratando a los animales, durante cinco días seguidos antes de su muerte, con 50 mgr. de un preparado de levadura, obtenido por precipitación con diez volúmenes de acetona de una solución del autolizado en alcohol clorhídrico.

6.º Avitaminosis *B*, tratando a los animales, durante cinco días seguidos antes de su muerte, con 50 mgr. de un preparado de levadura, obtenido por precipitación del autolizado con tres volúmenes de alcohol fuerte.

Además, referimos tres experiencias en palomas avitaminosas, tratadas con insulina por boca, efectuadas con el fin de investigar la acción vitamínica *B* de dicha hormona, y en las que verificamos los análisis como en las demás.

Los métodos empleados para los análisis fueron:

a) Azúcar de la sangre y el formado por la hidrolisis del glucógeno, por el micrometodo de Bang, el de Hagedorn-Jensen y por los semi-micrometodos de Mac-Lean y Folin.

b) Ácido láctico de la sangre, por el método de Collazo y Supniewski (47), muy semejante al de Hirsch-Kauffmann (48), descrito posteriormente.

c) El ácido láctico del hígado y de los músculos por el método de Fürth y Charnas, precipitando previamente las substancias reductoras por el sulfato de cobre, en medio alcalinizado con lechada de cal.

d) El ácido fosfórico del hígado y de los músculos por el método de Embden, Myrbach-Roche, titulando el fósforo por alcalimetría y haciendo la desalbuminación por el ácido tricloracético, en solución al 20 por 100, con ácido clorhídrico al 1 por 100.

e) El glucógeno por el método de Pflüger.

f) El glutacion de la sangre, por el de Tunniclyfe, con solución $\frac{N}{200}$ de yodo.

Una parte de los análisis han sido efectuados por métodos apropiados para trabajar con pequeñas cantidades de órgano (300-500 mgr.) pesados en la balanza de torsión de Bang, que utilizamos, también, en la determinación del extracto seco.

CONSIDERACIONES SOBRE LOS RESULTADOS

La consideración de los resultados, resumidos en el protocolo de las experiencias, nos permite destacar claramente el efecto de la vitamina *B* del autolizado de levadura de cerveza (lote 3.^o) sobre los procesos químicos del metabolismo, profundamente alterados en la avitaminosis *B*.*

El efecto, claro, de la insulina sobre la glucemia, la glucogénesis, e

* El autolizado de levadura de cerveza o su concentrado, utilizado por nosotros, contiene todas las vitaminas hidrosolubles del grupo *B*. Efectivamente, cuando hablamos de vitamina *B*, nos referimos al complejo vitamínico, pues es todavía imposible el individualizar cada una de las substancias en él contenidas, por sus propiedades biológicas sobre el metabolismo. Ha sido comprobada repetidamente, por diversos autores, la existencia, en este grupo, de uno o varios principios biológicos de acción evidente sobre la utilización de los hidratos de carbono alimenticios, estribando actualmente el problema en la caracterización y aislamiento de tal agente específico.

Según recientes publicaciones de Seidell, Shermann, Levene, Mc. Collum, Steenboock y Dutscher (49), las vitaminas contenidas en el grupo *B* pueden clasificarse del siguiente modo:

a) Factor «bios», termostable, resistente a las distintas acciones químicas: oxidación, hidrogenación, acidificación y a veces alcalinización, necesario para el crecimiento de los microorganismos (y quizás de todas las células).

b) Vitamina *B*, termolábil y alcalinolábil, antineurítica o antiberibérica, cuyo rol en el metabolismo es poco conocido.

c) Vitamina *G* (*B*₂ o P. P.) termostable y tan resistente como el bios (quizás idénticos), antipelagrosa.

d) Vitamina de utilización de los hidrocarburos, de entretenimiento nutritivo termostable y alcalinolábil, con algunas semejanzas a la vitamina *G* o antipelagrosa (Randolin y Lecocq) (50).

Estas clasificaciones biológicas tienen tan sólo un valor provisorio, mientras no se llegue a una suficiente separación química que nos permita referir a un elemento determinado las propiedades biológicas, observadas por administración a los animales. Hay que tener en cuenta, también, que, seguramente, ha contribuido a la dificultad en la caracterización de las vitaminas el uso de distinto *test* para los diversos factores. Así, vemos que se utiliza la paloma para la determinación del factor *B* antineurítico y del de utilización de los azúcares; el perro para el *G*, antipelagroso; a veces, la rata, para el antineurítico y de entretenimiento nutritivo; el aumento de peso de la levadura de cerveza para el factor «bios», etc. Si agregamos aún la presencia de insulinoídes, zimasa, catalizadores, etc., en los productos de la levadura utilizados por los investigadores, apreciaremos en toda su complejidad el problema del aislamiento de los diversos efectos biológicos de los mencionados productos.

Queremos hacer constar, empero, la existencia de un cúmulo de investigaciones favorables a la presencia, en el complejo *B*, de un factor de utilización o biorregulador del metabolismo de los hidratos de carbono.

indirectamente sobre el ácido láctico de los órganos, no es tan intenso como el del autolizado total. Respecto al efecto curativo, la insulina fué incapaz de modificar el estado general y la grave evolución de la enfermedad. El examen del contenido en vitamina *B* de los preparados de insulina de las firmas Meister Lucius y Lilly, suministrados por vía oral a dosis extraordinarias (40-120 unidades), nos reveló, en las condiciones de nuestra experiencia, una ineficacia casi completa, o a lo menos sin acción sobre el peso de los animales ni sobre el ataque de beri-beri (tres experiencias). El análisis del quimismo hidrocarbonado nos reveló, no sin sorpresa, una acción neta de la insulina *per os* sobre la glucemia en el sentido del descenso; su efecto sobre la glucogenia hepática en la avitaminosis es, también, franco, aunque muy inferior al que produce por vía parenteral. Por lo tanto, nos inclinamos a admitir que los preparados de insulina que utilizamos carecen de vitamina *B*, por lo menos en cantidad considerable.

Ahora bien, ¿es la relación inversa igualmente exacta?

El autolizado de levadura, ¿está desprovisto de insulina o de insulinoïdes?

La respuesta es más bien negativa, pues numerosos autores han extraído de la levadura la glucoquinina (Collip (51), Winter (52) y Smith, Funk y Corbitt (53), etc.), de efecto análogo a la insulina. Una separación entre vitamina *B* e insulina o sustancias análogas es difícil de lograr con certeza. Los resultados de los grupos 5.º y 6.º han sido conseguidos con dos preparados o fracciones del autolizado de levadura de cerveza, con la idea de aislar sus efectos sobre el metabolismo y deducir, en consecuencia, la existencia de una sustancia activa. Desde este punto de vista, el éxito no fué decisivo.

a) El precipitado alcohólico del autolizado, que no es muy voluminoso, una vez recogido y desecado, se ha mostrado con un débil poder vitamínico *B*, a la dosis utilizada por nosotros, y aunque su acción sobre el glucógeno y las combinaciones orgánicas del fósforo (*B-A*) aparece bien visible, sólo nos permite adelantar, por ahora, un indicio de exclusión de vitamina *B* en su composición. La precipitación alcohólica no es suficientemente segura, pues el precipitado arrastra vitamina *B*. Por ella se obtiene, en primer lugar, el complemento o cocimasa de Meyerhof, cuya acción específica sobre la formación de ácido láctico a expensas de exosofosfato había sido puesta en claro con gran exactitud por el mencionado investigador y sus colaboradores en los procesos anaerobios del quimismo del músculo, y por Neuberger (54) y los suyos (entre ellos uno de nosotros, C. Pi-Suñer Bayo) (55) en la levadura y las hojas de los vegetales superiores. Sin embargo, una intervención del *cofermento* en la *esterificación* de los fosfatos en la fase aerobia parece admitida en los

últimos trabajos de Meyerhof (56) y Lohmann (57), continuándose luego las etapas sucesivas del desdoblamiento, sin la necesaria intervención del cofermento. ¿Incluso en los animales vivos e introducidos por vía gástrica posee el cofermento alguna acción biológica?

La cuestión es nueva y no ha sido tratada hasta ahora, y estos resultados pueden servirnos de punto de partida para ulteriores investigaciones con el cofermento o coenzima, purificado por el método de Euler y Myrbäck (58). Es sabido que estos autores han llegado en sus investigaciones a identificar casi la cocimasa con un nucleotido semejante al ácido adenil-fosfórico o que quizás sea el mismo ácido descubierto recientemente por Embden y Zimmermann, y que también se presenta en la levadura y en el músculo.

b) Tratando el autolizado con una solución alcohólica al 75 por 100 y ácido clorhídrico al 1'5 por 100, se precipita una porción poco voluminosa; decantando y tratando por diez volúmenes de acetona, se obtiene un precipitado abundante que, lavado con alcohol absoluto y éter, y desecado en el vacío, posee una gran actividad vitamínica *B* (tercer método de Collazo y Goslino) (59). A la dosis de 50 mgr. por día tiene este preparado una acción evidente y rápida sobre el cuadro general de la avitaminosis *B*. Es activo contra el ataque, y los análisis demuestran su eficacia sobre la glucemia y su estímulo notable en la formación del glucógeno del hígado y del músculo en la paloma avitaminosa. Su acción sobre el ácido láctico de la sangre y la recuperación de las fuerzas musculares que sobreviene a las pocas horas (2-10) de introducido por sonda en el buche de una paloma en ataque convulsivo o en estado caquéctico, así como el estímulo poderoso sobre el apetito (ingestión espontánea de 25-50 gr. de arroz) en la avitaminosis, nos permiten concluir que este preparado contiene la vitamina *B* en muy elevada concentración.

Como sea que las soluciones de este precipitado dan las reacciones del cloro, podría ser considerado como un clorhidrato de vitamina *B*, aunque muy impuro todavía, por la presencia de otras sustancias proteicas. Debemos insistir sobre el efecto que tiene en la glucogénesis disminuida y en la hiperglucemia que acompaña a la evolución de la avitaminosis, paralelamente a su efecto vitamínico. ¿Nos autoriza esta asociación a reconocer en el preparado una identidad de los efectos sobre el metabolismo de los hidratos de carbono y vitamínico?

La existencia probable de insulinoideas en este clorhidrato complejo nos impide el responder afirmativamente a esta pregunta. Hay puntos de referencia favorables a una identidad entre los dos efectos, para concluir en una acción de la vitamina *B* sobre el metabolismo de los hidratos de carbono; pero las pruebas son tan sólo, por ahora, indirectas o provisionarias, dado que no hemos realizado dichas experiencias con preparados

completamente puros de vitamina B. Las investigaciones sobre el metabolismo hidrocarbonado en los animales con dietas *sin* vitamina B, en los cuales el páncreas no presenta alteraciones anatómicas que expliquen los graves desórdenes anotados en la introducción de este trabajo, constituyen una fuerte presunción a favor de la especificidad vitamínica de estas alteraciones.

Por otra parte, la ineficacia casi completa de la insulina suministrada por vía oral o parenteral sobre los síndromes cardinales de la avitaminosis, conservando, no obstante, una acción evidente sobre el metabolismo de los hidratos de carbono (glucemia, glucogenia, etc.), refuerza la opinión de que la vitamina B que actúa en forma aun más enérgica que la insulina sobre el quimismo hidrocarbonado en la avitaminosis y que cura rápida y radicalmente los accidentes del beri-beri experimental, posee identificadas ambas funciones, o que, de otra manera, es un agente de acción específica sobre el metabolismo de los azúcares.

RESUMEN DEL PROTOCOLO DE LAS EXPERIENCIAS

TABLA I

Cada cifra expresa el valor medio de los análisis realizados en cinco palomas, correspondientes a cada uno de los seis lotes.

Lo de control, palomas normales:

Organo	Glucógeno m. por 100	Acido láctico m. por 100			Acido fosfórico m. por 100		
		A	B	B-A	A	B	B-A
Músculo.....	361	301	520	219	309	412	103
Hígado.....	3039	90	136	46	138	171	33

Lote de palomas en avitaminosis B:

Músculo.....	140	360	398	38	505	650	145
Hígado.....	129	136	200	64	100	136	36

Lote de palomas en avitaminosis con autolizado total de levadura de cerveza (vitamina B):

Músculo.....	721	307	451	144	371	503	132
Hígado.....	6423	143	261	118	130	249	119

Lote de palomas en avitaminosis con insulina por inyecciones:

Músculo.....	233	275	395	120	360	457	97
Hígado.....	3939	97	230	133	105	130	25

Lote de palomas en avitaminosis con fracción precipitada por acetona (clorhidrato de vitamina B):

Músculo.....	469	212	318	106	395	433	38
Hígado.....	3239	185	305	120	123	145	22

Lote de palomas en avitaminosis, con fracción precipitada por alcohol fuerte (¿cofermento?):

Organo	Glucógeno m. por 100	Acido láctico m. por 100			Acido fosfórico m. por 100		
		A	E	B-A	A	B	B-A
Músculo.....	229	215	361	146	391	469	78
Hígado.....	1390	100	131	31	144	197	53

Lote de tres palomas en avitaminosis con insulina *per os*:

Músculo	201	250	397	147	355	465	110
Hígado	2241	100	297	197	103	136	33

A. — Significa el valor del ácido láctico y ácido fosfórico preformado, determinado inmediatamente de sacrificado el animal.

B. — Significa el valor del ácido láctico y del ácido fosfórico desdoblado, luego de permanecer dos horas en la estufa a 40° en medio alcalino, más el preformado.

B-A. — Significa el valor del ácido láctico y del ácido fosfórico deducido por diferencia entre los dos valores anteriores, y expresa la fracción combinada puesta en libertad por hidrolisis.

TABLA II

Cada cifra expresa el valor medio de los análisis realizados en la sangre de 3-5 palomas correspondientes a cada uno de los siete lotes.

Lote de control, palomas normales:

Glucemia m. por 100	Lactacidemia m. por 100	Glutation m. por 100
197	26'7	71

Lote de palomas en avitaminosis:

270	50'1	58'3
-----	------	------

Lote de palomas en avitaminosis, con autolizado de levadura de cerveza:

208	30'5	75'1
-----	------	------

Lote de palomas en avitaminosis con insulina en inyecciones:

98	47	70'5
----	----	------

Lote de palomas en avitaminosis, con fracción precipitada con acetona (¿clorhidrato de vitamina B?):

210	23'5	79'7
-----	------	------

Lote de palomas en avitaminosis, con fracción precipitada por alcohol fuerte (¿cofermento?):

249	19'8	56'7
-----	------	------

Palomas en avitaminosis con insulina por boca:

212	32	56
-----	----	----

Ocupándonos ahora, concretamente, de cada uno de los resultados correspondientes a los diferentes lotes, y haciendo las comparaciones necesarias para estudiar los efectos según las diversas condiciones experimentales, podemos sintetizar del modo siguiente.

Al considerar los resultados, se observa inmediatamente, y de un modo general, una diferencia (ya puesta de manifiesto en trabajos anteriores) entre el metabolismo de las palomas normales y el de las avitaminosas. Por otra parte, resalta en forma evidente el efecto de la vitamina *B* (autolizado de levadura) sobre la recuperación de las funciones biológicas del metabolismo de los azúcares, alteradas en la avitaminosis *B*. En algunas etapas de este metabolismo, desempeña la insulina un papel semejante al de la vitamina *B*, incluso si se suministra *per os*, y a pesar de haberse comprobado repetidas veces su ineficacia en la curación de la enfermedad experimental. Como veremos en seguida, la diferencia es, también, muy clara en la cantidad de ácido láctico de la sangre, formado en el metabolismo intermediario. Veamos lo que nos indica el estudio de cada uno de los valores obtenidos:

1.º *Glucógeno*. — El glucógeno disminuye en la avitaminosis, y más en el hígado que en los músculos, como ya lo habían demostrado Funk (60), Collazo (61), Ogata (62), Abderhalden (14), Sinhoda (12), Randoin (63), etc. La función glucogénica es estimulada (alcanzando cifras extraordinarias) por la insulina en inyecciones y aporte simultáneo de glucosa *per os* (Bickel y Collazo (38), Koudroezewska (18) y Fisher) (26). Igual efecto, pero curando rápidamente los síntomas de la enfermedad, se consigue con la vitamina *B* del autolizado de levadura (Collazo y Sosa) (45). La acción del precipitado acetónico es del mismo grado que la del autolizado total, mientras que el alcohólico es muy débil. La insulina *per os* actúa, también, en la recuperación de la glucogénesis de las palomas avitaminosas.

2.º *Acido láctico*. — En la avitaminosis se observan ciertas diferencias en los valores medios del ácido láctico preformado, diferencias aun mayores en el combinado o esterificado, desdoblado luego de permanecer dos horas a la estufa a 40º en medio alcalino. Obsérvase una mayor cantidad de ácido láctico preformado y menor del combinado en la avitaminosis que en el estado normal, siendo aún la diferencia mayor en el lote tratado con vitamina *B*. El músculo y el hígado se comportan en la avitaminosis como en los animales sometidos a un fuerte trabajo muscular y despojados de glucógeno; hay un exceso de ácido láctico, evidente sobre todo en la sangre : 50'1 por 100 (26'7 por 100 normal). El estudio del ácido láctico en la sangre y en la orina ha sido verificado hace ya años por Collazo (6) y Rosenwald (24), con los mismos resultados : retención del ácido láctico en los medios internos, y aumento de

la eliminación renal. Recientemente han efectuado observaciones semejantes Pugliese (64) y Negri (31), enriqueciendo el estudio con el dosaje del ácido láctico en los músculos y concluyendo que en la avitaminosis *B* de la paloma existe una evidente insuficiencia de la función de resíntesis o polimerización a hidratos de carbono más complejos (poliozas, glucógeno), a partir del producto de gasto del metabolismo anaerobio del azúcar, ácido láctico; función que se realiza en el organismo con gasto de energía y consumo de oxígeno, según el esquema de Meyerhof e Hill. Una disminución del consumo de oxígeno respiratorio de los tejidos y del cociente respiratorio ha sido observada por numerosos autores en la avitaminosis (Ramoino (65), Abderhalden (66), Hess (67), Magne y Simonet (68), etc.); otros no observan variaciones tan claras y no admiten diferencias más allá de los límites de error, con los valores de los animales en ayunas o en inanición (Anderson y Kulp (69), Roche (70), etcétera).

Relacionado con esta cuestión, es interesante recordar las investigaciones de Abderhalden (71), Randoin y Fabre (72), Collazo, Varela y Rubino (73), Collazo y Munilla (74), Varela, Duomarco y Munilla (75), J. Pi-Suñer Bayo (76), etc., sobre el poder de óxido-reducción de los tejidos, hígado, músculo, sangre, etc., en la avitaminosis *B* comparado con el estado normal y después del tratamiento con autolizado de levadura o con insulina; cuyos resultados concuerdan en constatar, en la avitaminosis de la paloma, un descenso grande de los valores del glutatión en el hígado, músculo y sangre; así como un aumento, que llega hasta sobrepasar los valores normales a consecuencia del tratamiento con vitamina *B* (autolizado de levadura) o con insulina, aunque en menor grado. Teniendo en cuenta el rol del glutatión en los fenómenos de óxido-reducción del músculo (Hopkins (77), Meyerhof (78), etc.), puede admitirse que su pobreza en el organismo avitaminoso va causalmente unida, por lo menos en parte, a las alteraciones disoxidativas o insuficientes redoxidaciones de los principios inmediatos del metabolismo; originando una retención del ácido láctico producido por el predominio de la anaerobiosis. La falta de desdoblamiento oxidativo molecular intermediario repercute en el aumento del carbono total eliminado o carbonuria, descrita por Bickel y sus colaboradores en la avitaminosis y otros estados hipooxidativos.

En apoyo de un defecto de resíntesis del ácido láctico en el metabolismo intermediario durante la avitaminosis, debemos recordar las experiencias realizadas hace ya unos años por Collazo y Morelli (79), sometiendo a «training», durante veinte minutos, un perro en avitaminosis *B* y estudiando la evolución de la curva de la lactacidemia. Estos autores observaron que en el mismo animal, y sometido a idéntico esfuerzo mus-

cular, se presentaba un gran aumento en la lactacidemia antes y después del ejercicio en la avitaminosis, llegando a veces a cifras casi dobles y demorándose mucho la vuelta al valor normal; es decir, un retardo en la resíntesis mayor de cuarenta y cinco minutos, en comparación con el período normal.

La existencia de elevadas cantidades de glutatión reducido (R-SH) en el autolizado de levadura de cerveza, es un hecho que plantea la cuestión de si el efecto favorable constatado con la levadura en la avitaminosis es debido a la vitamina *B*, a la existencia del glutatión o a la acción combinada de ambos factores.

En resumen, en la avitaminosis *B* de la paloma hay una acumulación de ácido láctico en el organismo, acompañada de un descenso considerable del glucógeno y del glutatión reducido; la vitamina *B*, y en menor grado la insulina, producen un aumento de la síntesis oxidativa del glucógeno, una elevación del glutatión y de la resíntesis del ácido láctico. No podemos todavía aislar el efecto mencionado por la coexistencia de varias sustancias, incluso glutatión, en el complejo del autolizado de levadura de cerveza.

3.º *Acido fosfórico*. — El ácido fosfórico preformado y combinado o esterificado del músculo ofrece en la avitaminosis (lote 2.º) un gran aumento en comparación con el de las palomas normales. Las tres fracciones (B-A), (B) y (A) descienden, alcanzando cifras mucho menores, bajo la acción de la vitamina *B* (lote 3.º); efecto más pronunciado aún con las otras fracciones del autolizado, e incluso con la insulina. El fósforo preformado del hígado es mayor en los animales tratados con autolizado o sus fracciones, o insulina, que en la avitaminosis, aproximándose a los valores normales. En la avitaminosis concuerdan nuestros resultados, en líneas generales, con los de Pugliese, constatando una retención de fósforo en los músculos de los animales avitaminosos. Ya Lawaczek (80) había observado en los músculos pectorales de la paloma enferma de beri-beri un aumento considerable del fósforo, calculado en sustancia seca, en comparación con el de los animales normales o en inanición.

También relacionados con todo lo anterior debemos mencionar los trabajos de Collazo (81), Adachi (82), Asada (83), Morinaka (84), Yoshiue (85), Hirabayashi (86), etc., sobre la eliminación del fósforo por la orina en la avitaminosis *B*, observando un aumento uniforme. En la sangre ha descrito María Di Giorgio (87) un aumento progresivo del fósforo inorgánico, paralelo a los fenómenos espásticos y acompañado de hipocalcemia. Estos resultados pueden ser interpretados, ya sea considerándolos en relación con las alteraciones del metabolismo hidrocarbonado, ya como manifestaciones del metabolismo mineral en sí.

En el primer caso, es necesario tener en cuenta la total transformación de nuestros conocimientos sobre el quimismo de las combinaciones fosforadas del músculo, experimentada en estos últimos años, gracias a los trabajos de Meyerhof (56), Lohmann (57), Fiske y Subrarow (88), Eggleton (89), Embden y Zimmermann (90), Nachmannson (91), Lunds-gaard (92), etc. En efecto, el ácido fosfórico preformado es sólo en muy pequeña parte inorgánico, procediendo en la mayor de una combinación orgánica inestable, con creatina en los vertebrados y con arginina en los invertebrados, denominada fosfageno. El ácido fosfórico obtenido por hidrolisis en la estufa y en medio alcalino toma origen en sus cuatro quintas partes en el desdoblamiento del complejo adenilpirofosfórico, en ácido ortofosfórico, y sólo en fracción muy reducida, a expensas de algunos de los ácidos exosafosfóricos. Estos hechos ocupan el lugar que anteriormente correspondía al esquema del lactacidógeno de Embden. En cuanto al metabolismo mineral en sí, es muy probable que sea imposible de considerar aisladamente de sus combinaciones orgánicas, tales como esterexosofosfóricos, fosfagenos, nucleótidos, fosfátidos, etc., cuya intervención en los procesos intermediarios es decisiva aun en aquellas funciones como la de osificación, consideradas, antes de ahora, como puramente minerales (Robinson) (93).

De todo lo anterior se deduce que, dada la renovación de los conocimientos y el perfeccionamiento de las técnicas, no podemos adelantar, en cuanto al metabolismo del fósforo atañe, más que conclusiones generales; constatando un aumento del ácido fosfórico muscular, quizás independiente en sí y aparentemente no unido, de un modo necesario, a las alteraciones del metabolismo hidrocarbonado.

4.º *Glucemia*. — Nuestros resultados confirman la hiperglucemia en la avitaminosis *B*, y la acción de la vitamina *B* y la insulina, constatada ya por uno de nosotros y por numerosos autores. Queremos hacer notar, de un modo especial, cómo la insulina *per os* puede, también, realizar el mismo efecto, aunque de un modo más débil.

5.º *Lactacidemia*. — La lactacidemia en la avitaminosis *B*, descrita por Collazo y Morelli (79) y confirmada por Pugliesi (64), Negri (31), etc., ha sido observada una vez más en nuestros trabajos. También hemos visto que la insulina en inyecciones actúa muy débilmente, mientras que la vitamina *B* reduce al ácido láctico de la sangre a su valor normal o por debajo de éste, mediante alguno de sus preparados (lotes 4.º y 5.º). La función de resíntesis de ácido láctico o glucógeno, entorpecida en la avitaminosis *B*, se recupera en los animales por la administración del autolizado de levadura.

6.º *Glutation de la sangre*. — La riqueza de la sangre en glutacion es como un espejo del estado de los tejidos. En la avitaminosis, y confirmando los resultados de Randoín y Fabre (72), se presenta un descenso

muy notable de glutation, que vuelve a alcanzar una cifra normal e incluso superior por la vitamina *B*. En el mismo sentido, pero en menor grado, actúa la insulina (Collazo y Munilla (74), Varela, Duomarco y Munilla (75), J. Pi-Suñer Bayo, (76).

CONCLUSIONES

1.^a Se comprueban de nuevo las alteraciones del metabolismo hidrocarbonado descritas ya por varios autores, en confirmación de los estudios iniciados por uno de nosotros : Hiperglucemia, hipoglucogenia, hiperlactacidemia, retención de ácido láctico y ácido fosfórico en el medio interno, y disminución del glutation de la sangre y los órganos.

2.^a La vitamina *B* (autolizado de levadura de cerveza) regulariza el metabolismo patológico de la avitaminosis, estableciendo en general valores normales, acompañados de la curación de la enfermedad experimental. Algunas fracciones, especialmente el clorhidrato de vitamina *B*, poseen más intensamente estas propiedades.

3.^a La insulina posee en la avitaminosis su acción glucogénica habitual y efectos secundarios sobre el metabolismo intermediario, aunque en grado inferior a la vitamina *B* del autolizado, y sin ir acompañada de eficacia curativa, pues los animales mueren en evitaminosis, a pesar de una mejoría relativa de los síntomas bioquímicos. Esta función de la insulina se manifiesta incluso por vía oral. Podemos concluir de nuestros estudios, en confirmación de las investigaciones realizadas en 1923 por Bickel y Collazo, que nada nos autoriza hasta ahora para suponer una identidad entre la vitamina *B* y la insulina. La semejanza de acción no se debe a una acción específica de la insulina en la avitaminosis, o, inversamente, que las alteraciones del metabolismo hidrocarbonado de la avitaminosis sean de origen pancreático exclusivo. El efecto que en estos casos ejerce la insulina es el mismo que el que realiza sobre el organismo normal o diabético, estimulando la glucogénesis.

4.^a La carencia de vitamina *B* origina una enfermedad de la nutrición, caracterizada por un cuadro de asimilación defectuosa de los hidratos de carbono, independiente de una disfunción pancreática inicial.

BIBLIOGRAFÍA

1. Collazo, J. A., Actas y trabajos del tercer Cong. Med. Arg., 6, 701; 1926. Rev. Med. Lat. Amer., 135, 12; 1926.
2. Pi Suñer, A., Les distrofies per retard. Barcelona, 1929; edición castellana, 1930. Libro Homenaje a Marañón. Madrid, 1929.
3. Eijkmann, Archiv. Path. Anat. u. Physiol., 148, 523; 1897.

4. *Braddon y Cooper*, Journ. of Hyg., 14, 331; 1911.
5. *Funk*, Zeitschr. f. Physiol. Chem., 89, 378; 1914.
6. *Collazo*, Deuts. Med. Woch., 4, 1923. Sem. med. de Charkow (Ukrania), 3, 5; 1923.
7. *Tasawa*, Bioch. Zeits., 136, 105; 1923.
8. *Tcherkes*, Bioch. Zeits., 149, 51; 1924.
9. *Randoin y Simonet*, Comt. Rend. Acad. Scienc., 177, 903; 1923.
10. *Collazo y Funk*, Journ. of Metabol. Resch., 5, 187; 1924. Id., 5, 195; 1924. Comt. Rend. Soc. Biol., 92, 997; 1925. Hev. Med. pol., 3, 1, 1924. Gaceta de Medic. polaca, 3, 6; 1924; Zeitsch. f. Zelle u. Gew., 12; 1925.
11. *Collazo*, Bioch. Zeits., 134, 194; 1922. Id., 136, 20; 1923; Id., 136, 26; 1923. Id., 136, 278; 1923. Id., 140, 254; 1923; Id. 141, 370; 1923. Id., 145, 436; 1924. Comun. Soc. Biol. Montevideo, 1929.
12. *Sinhoda*, Zeits. f. g. exp. med., 40, 274; 1924. Bioch. Zeits., 150, 366; 1924.
13. *Collazo y Rubino*, Bioch. Zeits., 140, 252; 1923.
14. *Abderhalden*, Arch. ges. Physiol., 198, 169; 1923.
15. *Paladin*, Bioch. Zeits., 152, 228; 1924.
16. *Alpern*, Bioch. Zeits., 138, 142; 1923.
17. *Kogan*, Sem. Med. de Charkow, 1924.
18. *Koudroezewska*, Presse Médic., 57, 132; 1924.
19. *Chahovitch*, Com. Rend. Soc. Biol., 93, 652; 1925. Id., 93, 1333; 1925. Id., 94, 226; 1926.
20. *Randoin y Simonet*, Les données et les inconnues du problème alimentaire, II. La question des Vitamines. Paris, 1927.
21. *Bickel*, Deuts. med. Woch., 29, 965; 1922. Bioch. Zeits. 146, 493; 1924. Id., 166, 251; 1925.
22. *Simhizu*, Bioch. Zeits., 153, 424; 1924.
23. *Kauffmann-Cosla*, Bioch. Zeits., 166, 251; 1925.
24. *Rosenwald*, Bioch. Zeits., 168, 324; 1926.
25. *Collazo y Munilla*, Rev. Med. del Uruguay, julio de 1928. Comt. rend. Soc. Biol., 99, 1448; 1928. *Collazo, Varela y Rubino*, Comun. Soc. Biol. Montevideo, 1928. *Collazo y Rubino*, Comun. Soc. Biol. Montevideo, 1928. *Collazo*, Deuts. Med. Woch., 39; 1925.
26. *Fisher*, Tesis doctoral, 1925.
27. *Borghi*, Bioch. Terap. sperimentale, 14, 6; 1927.
28. *Pugliese*, Arch. italia. di. Biol., 81, 1-2; 1929.
29. *Usuelli*, Bioch. e Terapia speriment., 13, 109, 231, 309; 1926.
30. *Eggleton y Gros*, Bioch. Journal, 19, 633; 1925.
31. *Negri*, Bioch. terap. sperim., 16, 10; 1929.
32. *Sure*, Journ. biol. chem., 1930.
33. *Stucky*, Amer. Journal of Physiol., 89, 1; 1929.
34. *Kon y Drummond*, Bioch. Journal, 21, 632; 1927.
35. *Pelczar*, Bul. Ac. polonaise sc. let., 219; 1929.
36. *Pi-Suñer Bayo, J., y Ferrán*, Rev. Med. Barcelona, 11, 493; 1929.
37. *Collazo y Ghose*, Bioch. Zeits., 139, 285; 1923.
38. *Bickel y Collazo*, Deuts. med. Woch., 45; 1923.
39. *Collazo y Alpern*, Zeits. f. d. g. exp. med., 35, 288; 1923.
40. *Kauffmann-Cosla y Roche*, Ann. de med. Paris, 20, 128; 1926
41. *Onohara*, Bioch. Zeitsch., 163, 51; 1925.
42. *Collazo*, Comun. Soc. biol. Montevideo, 1929.
43. *Kon*, Journal of nutrition, 1, 465; 1929.
44. *Roche*, Comt. rend. soc. biol., 98, 1225; 1928. Bull. soc. Chem. biol., 12, 342; 1930.
45. *Collazo y Sosa*, Actas y trabajos del Congreso de Med. Arg., 6, 877; 1926.
46. *Pugliese*, Arch. soc. biol., 11; 1928.
47. *Collazo y Supniewsky*, Comt. rend. soc. biol., 92, 370; 1925. Gaceta de Medicina polaca, 10; 1924.

48. *Hirsch-Kauffmann*, Zeits. f. physiol. Chem., 140, 25; 1924.
49. *Seidell, Sherman, Levene, etc.*, Science, 69, 276; 1929.
50. *Randoin y Lecocq*, Bull. Soc. chim. biol., 11, 745; 1929.
51. *Collip*, Journ. Biol. Chem., 56, 513; 57, 63; 1923.
52. *Winter y Smith*, Journ. of physiol., 61, 5; 1925.
53. *Funk y Corbitt*, Proc. S. exp. biol. med., 20, 422; 1923.
54. *Neuberg*, en *Oppenheimer's Handbuch der Biochemie*, 2.^a edic., 11, 442; 1925.
55. *Pi-Suñer Bayo, C.*, Biochem. Zeits., 213, 489-495; 1929.
56. *Meyerhof*, Die chemischen Vorgänge im Muskel. Berlin, Springer, 1930.
57. *Lohmann*, en *Oppenheimer's Handbuch der Biochemie. Ergänzungsband*, 2.^a edic. Fischer, pág. 133. Jena, 1930.
58. *Euler, Myrbäck y Nilsson*, Ergebn. der Physiol., 26, 557; 1928.
59. *Collazo y Goslino*, Comun. soc. biol. Montevideo, 1927.
60. *Funk y Schönborn*, Journ. of Physiol., 48, 328; 1914.
61. *Collazo*, Bioch. Zeits., 134, 194; 1922.
62. *Ogata*, Verh. der Japan. Path. Gess. 10 Tagung. Tokio, 1920.
63. *Randoin y Lesbes*, Bull. soc. chim. biol., 8, 15; 1926.
64. *Pugliese*, Arch. sc. biol., 12, 251; 1928.
65. *Ramoino*, Arch. italian. biolog., 65, 1; 1916.
66. *Abderhalden*, Arch. ges. physiol., 187, 80 y 84; 1921.
67. *Hess*, Zeits. physiol. chem., 117, 284; 1921.
68. *Magne y Simoni*, Bull. soc. biol., 4, 419; 1922.
69. *Anderson y Kulp*, Journ. biol. chem., 52, 63; 1922.
70. *Roche*, Arch. intern. physiol., 24, 413; 1925.
71. *Abderhalden*, Arch. ges. physiol., 201, 416; 1923.
72. *Randoin y Fabre*, Bull. soc. chim. biol., 9, 1027; 1927.
73. *Collazo y Rubino*, Comunic. Soc. biol. Montevideo, 1929.
74. *Collazo y Munilla*, Comun. soc. biol. Montevideo, 1929.
75. *Varela, Duomarco y Munilla*, Arch. soc. de biol. Montevideo, 1.
76. *Pi-Suñer Bayo, J.*, Tesis doctoral. Barcelona, 1930.
77. *Hopkins*, Bioch. Journ., 19, 787; 1925.
78. *Meyerhof*, Arch. ges. physiol., 199, 531 y 200, 1; 1925.
79. *Collazo y Morelli*, Journ. de physiol. et de path. gen., 24, 54; 1925.
80. *Lawaczec*, Zeits. f. physiol. chem., 125; 1923.
81. *Collazo*, Biochem. Zeits., 145; 1924.
82. *Adachi*, Bioch. Zeits., 143; 1923.
83. *Asada*, Bioch. Zeits., 141; 1923.
84. *Morinaka*, Bioch. Zeits., 133; 1922.
85. *Joshiue*, Bioch. Zeits., 148; 1924.
86. *Hirabayashi*, Bioch. Zeits., 145, 18; 1924.
87. *Di Giorgio*, Archiv. di fisiologia, 24, 215; 1927.
88. *Fiske y Subarow*, Science, 65, 403; 1927.
89. *Eggleton, P. y A.*, Bioch. Journ., 21, 190; 1927.
90. *Embden y Zimmermann*, Zeits. physiol. chem., 167, 114; 1927.
91. *Nachmansohn*, en *Oppenheimer's Handb. f. Biochem. Ergänzung.*, pág. 162; 1930.
92. *Lungsgaard*, Bioch. Zeits., 217, 162; 1930.
93. *Robinson*, Biochem. Journal, 16, 809; 1922.

Departamento de Biología Experimental de la Universidad de Berlín. Director. profesor A. Bickel.