

ORIGINALES

LA INTERVENCION DE LAS VITAMINAS EN EL METABOLISMO PROTEICO

III. — *Estudios con vitamina A en animales adultos.*

C. JIMÉNEZ DÍAZ, F. VIVANCO, A. BUYLLA y J. M. DE PALACIOS

Instituto de Investigaciones Médicas. Director: Profesor C. JIMÉNEZ DÍAZ.

En trabajos anteriores¹⁻² hemos demostrado cómo la tiamina ejerce una marcada influencia en el metabolismo proteico, favoreciendo la utilización de las proteínas, tanto en el animal adulto como en los jóvenes en crecimiento, y tanto en dietas pobres en proteínas como en las normoproteicas. Probado ese hecho, cabía preguntarse si dicha acción era propia y específica de la vitamina B₁ o si era anespecífica y común a otras vitaminas, o por lo menos a aquellas que se sabe son indispensables para el crecimiento de los animales jóvenes. Para contestarnos a estas preguntas fueron planteadas las siguientes experiencias, en las que se estudió el efecto de la vitamina A sobre el metabolismo proteico.

Se sabe que la vitamina A es factor indispensable, bien como tal vitamina o como provitamina, conociéndose perfectamente las consecuencias de su carencia. En cambio, lo que aún no está aclarado es su mecanismo íntimo de acción; por su estructura se supone que interviene en los procesos de óxidorreducción, creyendo MASON³ que debe actuar en algún proceso esencial para la nutrición de los endotelios. Por otra parte, y desde los trabajos de OSBORNE y MENDEL, McCOLLUM y colaboradores, etc., se conoce su influencia sobre el crecimiento, que BAKER ha probado en cultivos de tejidos. ENSHOFF y DEUEL⁴, por su parte, han demostrado cómo las ratas sometidas a carencia de vitamina A hasta que suspenden su crecimiento, no responden a la hormona del crecimiento, que al serles administrada hace aún más patentes los signos de avitamnosis A.

Siendo, pues, la vitamina A un elemento indispensable para la vida, de mecanismo de acción desconocido y que además actúa intensamente sobre el crecimiento, nos ha parecido interesante estudiar su relación con el metabolismo proteico, con lo que al mismo tiempo aclarábamos, al menos parcialmente, el problema de si la acción que sobre él tiene la tiamina es o no específica de ella.

Esta primera experiencia fué realizada en ani-

males adultos en condiciones muy semejantes a las de nuestra primera experiencia con vitamina B₁.¹

METÓDICA.

Fueron empleadas 40 ratas adultas de la colonia del Instituto de Investigaciones Médicas, todas ellas machos y de peso uniforme, siendo su peso medio inicial 173 gr. Se dividieron en cuatro lotes de 10 ratas, si bien la muerte intercurrente de algunos animales en el curso de la experiencia hizo que, al eliminar todos los datos procedentes de ellas, su número se redujese a 6 para el grupo I, 6 para el II, 10 para el III y 8 para el IV.

Los grupos I y II recibieron la llamada dieta 68 (hipoproteica), mientras los grupos III y IV recibían la dieta 67 (normoproteica). La composición de estas dietas es la siguiente:

	Dieta 68	Dieta 67
Caseína	3 %	20 %
Almidón	67 %	50 %
Aceite de olivas	15 %	15 %
Mezcla salina (McCollum)	5 %	5 %
Levadura seca de cerveza	10 %	10 %

Más 1 mgr. de tiamina y 300 unidades de vitamina D por cada 100 gr. de dieta.

El contenido en nitrógeno de la dieta 68, determinado directamente, fué de 12,99 mgr. por gramo de dieta, por lo que ésta contiene un 8,1 por 100 de proteínas. Su valor calórico es de 4,4 calorías por gramo. El contenido en nitrógeno de la dieta 67 fué de 33,4 mgr. por gramo de dieta, siendo su contenido en proteínas de 20,8 gr. por 100. Su valor calórico es igual que el de la 68.

Los grupos II y IV recibieron además 2.000 unidades de vitamina A por 100 gr. de dieta. La forma de administración fué la siguiente: partiendo de una solución de 20.000 unidades por centímetro cúbico, se diluyó un centímetro cúbico en 150 gr. de aceite de olivas, preparando con ellos un kilogramo de dieta.

Los animales fueron mantenidos en jaulas metabólicas individuales, procediéndose a su peso, peso de la dieta, recogida de la orina y heces, sacrificio, picado y análisis del cuerpo del animal, siguiendo las mismas técnicas que fueron comunicadas en nuestros anteriores trabajos¹. La determinación de carotenos y vitamina A en el cuerpo del animal se efectuó por el método colo-riométrico de Koehn, ligeramente modificado.

La experiencia se prolongó seis semanas, procediéndose al sacrificio de los animales y análisis de sus cuerpos en los días siguientes.

RESULTADOS.

A) *Evolución del peso a lo largo de la experiencia.*

En los protocolos incluidos al final del trabajo detallamos los datos individuales de cada ani-

mal, recogiendo sólo aquí, para mayor claridad expositiva, los valores medios correspondientes a cada grupo, que se expresan en el cuadro I y además gráficamente en la figura 1.

Vemos, pues, cómo los grupos sometidos a die-

ta hipoproteica (68) pierden de peso tanto si reciben como si no reciben vitamina A, e igualmente los que reciben una dieta rica en proteínas mantienen su peso e incluso lo aumentan tanto si existe como si falta vitamina A en ella.

CUADRO I
EVOLUCIÓN DEL PESO A LO LARGO DE LA EXPERIENCIA

Grupo	Dieta	Peso inicial	Peso final	Variación de peso	Variación %
I.....	68	171,3	139,2	— 32,1	— 18,7
II.....	68 + A	172,3	132,1	— 40,2	— 23,3
III.....	67	174,1	179,0	+ 4,9	+ 2,8
IV.....	67 + A	176,8	181,3	+ 4,5	+ 2,5

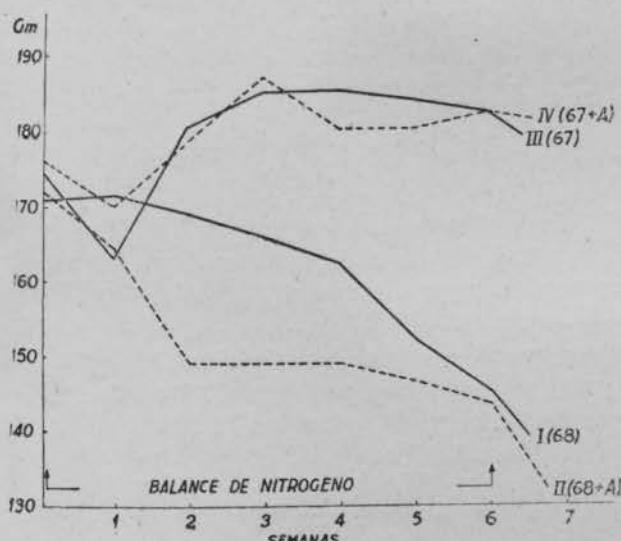


Fig. 1.

B) Balance de nitrógeno (seis semanas).

Reunimos las cifras medias en el cuadro II.

Ninguno de los resultados recogidos en este cuadro indica que exista una diferencia valorable entre los grupos que reciben y los que no re-

ciben vitamina A, tanto en la dieta hipo como en la normoproteica.

Encontramos aquí, de nuevo, un fenómeno que ya observamos en nuestros anteriores trabajos; la positividad del balance nitrogenado en animales que pierden peso y que, como a continuación veremos, muestran al final de la experiencia una concentración de proteínas en su cuerpo absolutamente normal y constante. Este hecho, en un principio, nos hizo pensar en algún error en la recogida de orina, etc.; pero su repetición en este trabajo (en el que se puso la máxima atención en evitar cualquier inexactitud en ello), nos llevó a investigar en la literatura, encontrando que JACQUOT y ARMAND, en 1942, observaron que las ratas alimentadas con régimen fuertemente proteico presentaban coeficientes de retención muy altos, con marcado balance positivo de N., y, sin embargo, perdían peso. La determinación del contenido procentual en proteínas del cuerpo del animal les dió cifras (20,31 por 100) absolutamente superponibles a las nuestras. Se trata, por tanto, de un fenómeno que no somos los únicos en encontrar, y cuya explicación no aparece clara.

Observamos también en las cifras anteriores que el porcentaje de retención del nitrógeno ingerido aumenta al elevarse el contenido proteico de la dieta.

CUADRO II

Grupo	Dieta	INGESTIÓN			ELIMINACIÓN			RETENCIÓN		Variación peso en 6 semanas
		Gr. dieta	Calorías	Mgr. N.	Heces	Orina	Total	Mgr. N.	% del ing.	
I.....	68	495,9	2.182	6.301	4.024	1.306	5.330	971	15,4	— 26,1 g.
II.....	68 + A	468,6	2.062	6.251	3.769	1.248	5.017	1.234	19,7	— 28,3
III.....	67	536,7	2.361	17.935	4.943	3.177	8.120	9.815	54,7	+ 8,2
IV.....	67 + A	505,6	2.224	17.175	5.344	3.766	9.110	8.065	46,9	+ 5,2

C) *Análisis del cuerpo del animal al final de la experiencia.*

Los resultados se sintetizan en el cuadro III.

Se observa aquí, ante todo, la constancia de la composición proteica procentual del cuerpo de los animales, que concuerda en un todo con las cifras que hallamos en nuestras anteriores experiencias.

Por lo demás, se ve claramente que la presencia o ausencia de vitamina A en la dieta no re-

percute en absoluto en la composición del cuerpo de los animales. Hemos, sin embargo, de hacer notar que, pese a la supresión absoluta de vitamina A en la dieta de los grupos I y III durante las seis semanas de la experiencia, la disminución de las cantidades de carotenos y de vitamina A logradas en su cuerpo ha sido escasa. Parece como si fuera imposible llevar al animal adulto a una verdadera deplección en esta vitamina, que quizás sería incompatible con su vida, o al menos que esta deplección exija más tiempo que el invertido en nuestras experiencias.

CUADRO III

Grupo	COMPOSICIÓN PROCENTUAL					CONTENIDO ABSOLUTO				
	Proteínas	Grasas	Agua	Carotenos (gammas)	Vit. A U. I.	Proteínas	Grasas	Agua	Carotenos (gammas)	Vit. A U. I.
I.....	20,9	3,43	70,3	200	1.110	16,06	2,66	51,60	148	778
II.....	19,08	3,22	73,2	241	3.475	13,96	2,41	52,41	190	2.635
III.....	22,49	4,88	70,1	135	2.185	24,38	5,25	77,20	142	2.346
IV.....	20,94	4,68	69,6	236	2.442	23,40	5,25	76,90	271	2.878

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.

De cuanto llevamos visto cabe concluir que la vitamina A no ejerce ninguna influencia ni sobre la evolución del peso (desnutrición) ni sobre el metabolismo proteico de los animales adultos. Si comparamos estos resultados con los logrados en condiciones análogas, pero con y sin tiamina¹⁻², como ha sido hecho detalladamente en la tesis doctoral de uno de nosotros (J. M. P.)³, encontramos una absoluta diferencia, ya que allí se veía claramente cómo la presencia de B₁ disminuía la intensidad de la desnutrición en dieta hipoproteica; cómo en ausencia de tiamina el animal perdía de peso incluso en dieta rica en proteínas; cómo a igualdad de dieta el tanto por ciento de retención de las proteínas ingeridas era más del doble en presencia de B₁ que en su carencia, etc., mientras que en la presente experiencia ninguno de estos hechos se ha producido.

La falta de relación existente en la rata adulta entre vitamina A y metabolismo proteico se objetiva muy bien si aplicamos a nuestra experiencia el cálculo propuesto por BOSSHARDT, YDSE, AYRES y BARNES⁴; pérdida o ganancia de proteínas corporales (en miligramos) por miligramo de nitrógeno ingerido. Haciéndolo, obtenemos los siguientes valores:

- El grupo I pierde 0,86 mgr. de proteínas corporales por miligramo de N ingerido.
- El grupo II pierde 0,72 mgr. de proteínas corporales por miligramo de N ingerido.
- El grupo III gana 0,10 mgr. de proteínas corporales por miligramo de N ingerido.
- El grupo IV gana 0,06 mgr. de proteínas corporales por miligramo de N ingerido.

Si recordamos que los grupos I y III no recibían vitamina A, vemos que no hay diferencia apreciable entre ellos y sus paralelos II y IV que sí la reciben.

Así, pues, podemos concluir que la acción sobre el metabolismo proteico de la rata adulta que la vitamina B₁ posee no es compartida por la vitamina A.

RESUMEN.

La influencia potenciadora de la utilización proteica que los autores demostraron posee la tiamina en la rata adulta no es ejercida por la vitamina A, cuya presencia o ausencia de la dieta no repercuten para nada en la curva de peso, composición del cuerpo del animal, balance nitrogenado, etc., ni tampoco altera el cociente

Pérdida o ganancia de proteínas del cuerpo del animal

Miligramos de N ingeridos.

BIBLIOGRAFIA

1. JIMÉNEZ DÍAZ, C., VIVANCO, F., PALACIOS, J. M., BUYLLA, A. y PICATOSTE, R.—Rev. Clin. Esp., 25, 249, 1947.
2. JIMÉNEZ DÍAZ, C., VIVANCO, F., PICATOSTE, R., BUYLLA, A. y PALACIOS, J. M.—Rev. Clin. Esp., 25, 254, 1947.
3. Citado por BICKNELL y PRESCOTT.—The vitamins in Medicine, Londres, 1946.
4. ENSHOFF, B. H. y DEUEL, H. J.—Endocrinology, 36, 280, 1945.
5. PALACIOS, J. M.—Tesis doctoral, Madrid, 1948.
6. BOSSHARDT, D. K., YDSE, L. C., AYRES, M. M. y BARNES, R. H.—Jour. Nutrit., 31, 23, 1945.

PROTOCOLO 1.

EVOLUCION DEL PESO Y ANALISIS DEL CUERPO DE CADA ANIMAL

Grupo	Rata	Dieta	Peso inicial	Peso final	Variación de peso Gm.	Variación Peso %	Muestra	Peso desosillada	NITROGENO		PROTEINAS		GRASAS		AGUA		CAROTEN.		VITAMINA A	
									Mgrs. por G.	Mgrs. totales	Gm. %	Gm. totales	Gm. %	Gm. total	Gm. %	Gm. totales	Gm. 100 g.	Gm. total	U. I. 100 gm.	U. I. totales
I	2.451	68	197	131	— 66	— 33,50	E	70	37,98	26,59	23,74	16,619	3,76	2,63	67,0	46,9	200	140	400	280
	2.452	"	197	154	— 43	— 21,82	S	90	32,23	29,01	20,15	18,131	3,10	2,79	71,4	64,26	—	—	—	—
	2.456	"	170	138	— 32	— 18,82	S	70	30,62	21,43	19,12	13,394	3,04	2,13	72,6	49,62	250	175	800	560
	2.457	"	157	158	+ 1	+ 0,63	S	88	34,33	30,21	21,45	18,881	4,78	4,19	69,2	60,50	200	176	500	440
	2.458	"	150	100	— 50	— 33,33	E	65	32,59	21,18	20,36	13,237	2,82	1,23	67,6	33,94	150	97	3.000	1.950
	2.459	"	157	154	— 3	— 1,91	S	78	33,14	25,85	20,71	16,156	3,10	2,41	74,2	54,56	200	152	850	663
MEDIAS			171,3	139,2	— 32,1	— 18,7		76,8	33,5	25,71	20,92	16,069	3,43	2,66	70,3	51,63	200	148	1.110	778,6
II	2.440	68 + A	204	155	— 49	— 24,01	S	83	32,45	26,93	20,27	16,831	3,54	2,93	69,2	56,78	400	332	800	664
	2.442	"	170	140	— 30	— 17,64	S	82	35,31	26,95	21,45	17,994	3,22	2,87	69,0	56,58	250	205	8.000	6.560
	2.444	"	186	115	— 71	— 39,03	E	69	20,54	19,69	17,97	12,306	2,76	1,97	75,0	51,75	300	207	1.400	966
	2.447	"	174	127	— 47	— 27,01	E	79	32,17	25,41	20,22	15,981	2,40	2,09	70,0	55,30	250	197	8.000	6.400
	2.448	"	150	135	— 15	— 10,00	E	80	25,87	20,69	16,16	12,931	4,02	3,21	79,2	63,36	250	200	400	276
	2.449	"	150	121	— 29	— 19,33	E	42	29,56	12,41	18,46	7,756	3,40	1,42	77,0	30,74	0	0	2.250	945
MEDIAS			172,3	132,1	— 40,2	— 23,3		72,5	50,65	22,34	19,08	13,966	3,22	2,41	73,2	52,41	241	190	3.475	2.635
III	2.430	67	185	203	+ 18	+ 9,72	S	120	31,63	37,95	19,77	23,725	4,12	4,94	69,0	83,80	0	0	3.000	3.600
	2.431	"	207	229	+ 22	+ 15,40	S	138	33,71	46,52	21,06	29,075	5,48	7,56	69,22	95,50	0	0	2.100	2.898
	2.432	"	187	162	— 19	— 10,16	S	99	33,33	33,00	20,83	20,625	3,56	3,52	72,20	71,44	250	247	8.000	7.920
	2.433	"	200	226	+ 26	+ 13,00	S	135	35,45	47,86	22,15	29,912	3,52	4,75	70,62	95,31	200	270	1.000	1.350
	2.434	"	177	188	+ 11	+ 6,21	S	115	40,78	46,90	25,47	29,312	4,38	5,03	70,00	89,58	250	287	2.300	2.645
	2.435	"	164	153	— 11	— 6,51	S	97	37,42	35,60	23,96	23,250	5,70	5,53	69,00	66,93	250	242	250	242
	2.436	"	160	173	+ 13	+ 8,12	E	90	35,38	31,83	22,70	19,894	7,06	6,35	66,40	59,76	0	0	3.800	3.420
	2.437	"	146	119	— 27	— 18,49	S	77	35,85	27,60	22,40	17,250	4,22	3,24	71,80	55,29	200	154	400	308
	2.438	"	150	167	+ 17	+ 11,33	S	110	38,40	42,24	24,01	26,412	5,62	6,22	71,60	78,78	200	220	400	440
	2.439	"	165	164	— 1	— 0,66	S	106	—	—	—	—	5,06	5,36	71,60	75,90	0	0	606	636
MEDIAS			174,1	179	+ 4,9	+ 2,79		108,7	35,8	38,83	22,49	24,383	4,88	5,25	70,1	77,2	135	142	2.185	2.346
IV	2.421	67 + A	210	207	— 3	— 1,46	S	130	37,24	48,41	23,05	29,977	3,68	4,78	66,0	85,80	250	325	1.400	1.820
	2.422	"	190	178	— 12	— 6,31	S	119	32,52	38,70	20,32	24,187	7,20	8,56	69,0	72,35	250	297	2.350	2.796
	2.423	"	177	197	+ 20	+ 11,29	S	121	33,80	40,90	22,77	25,562	3,46	4,18	71,20	86,16	150	181	9.400	11.374
	2.424	"	179	167	— 12	— 6,70	S	102	31,40	32,02	19,62	20,012	6,41	6,53	68,80	70,18	200	204	2.500	2.550
	2.426	"	157	180	+ 23	+ 14,64	S	106	29,86	31,65	18,66	19,783	3,98	4,21	73,20	77,60	250	265	250	265
	2.427	"	155	165	+ 10	+ 6,45	S	100	33,22	33,22	20,76	20,762	4,54	4,54	69,60	69,60	—	—	—	—
	2.428	"	167	167	0	0,00	S	100	31,08	31,08	19,43	19,435	3,45	3,43	69,00	69,00	200	200	550	550
	2.429	"	180	190	+ 10	+ 5,56	S	122	37,00	45,14	22,96	28,012	4,74	5,78	69,40	84,67	350	427	650	793
MEDIAS			176,8	181,3	+ 4,5	+ 2,5		112,5	33,3	37,64	20,94	23,4	4,68	5,25	69,6	76,9	236	271	2.442	2.878

PROTOCOLO 2.^o
BALANCE DE NITROGENO

(SEIS SEMANAS)

CIFRAS MEDIAS POR SEMANA Y ANIMAL

Grupo	Dieta	Semanas	Peso en gramos	INGESTION		ELIMINACION		RETENCION Mgrs. N.
				Consumo semanal de dieta. Gr.	N. semanal mgrs.	Heces	N. Orina	
I	68	0	171,3	—	—	—	—	—
	"	1	171,5	96,5	1.077	733	136	+ 208
	"	2	169,1	102,7	1.386	700	210	+ 476
	"	3	—	96,0	1.276	967	217	+ 92
	"	4	162,3	71,0	900	617	305	— 22
	"	5	152,1	75,5	957	506	233	+ 218
	"	6	145,2	54,2	705	501	205	— 1
SUMAS TOTALES				495,9	6.301	4.024	1.306	+ 971
II	68 + A	0	172,3	—	—	—	—	—
	"	1	164,3	83,2	1.141	547	80	+ 514
	"	2	148,1	58,2	757	506	337	— 86
	"	3	—	78,2	946	819	199	— 72
	"	4	148,0	69,7	897	548	265	+ 84
	"	5	—	103,0	1.442	671	208	+ 563
	"	6	144,0	76,3	1.068	678	159	+ 231
SUMAS TOTALES				468,6	6.251	3.769	1.248	+ 1.234
III	67	0	174,1	—	—	—	—	—
	"	1	163,9	69,0	2.035	498	360	+ 1.177
	"	2	180,1	80,3	2.489	602	639	+ 1.248
	"	3	185,0	98,7	3.423	1.052	529	+ 1.842
	"	4	185,0	93,6	3.238	973	780	+ 1.485
	"	5	—	93,1	3.290	791	533	+ 1.966
	"	6	182,3	100,0	3.460	1.027	336	+ 2.097
SUMAS TOTALES				536,7	17.935	4.943	3.177	+ 9.815
IV	67 + A	0	176,8	—	—	—	—	—
	"	1	170,2	86,4	2.315	544	433	+ 1.338
	"	2	—	51,4	1.508	752	400	+ 356
	"	3	186,9	95,7	3.490	996	687	+ 1.807
	"	4	180,5	86,6	3.217	907	854	+ 1.456
	"	5	180,4	87,3	3.169	934	606	+ 1.629
	"	6	182,0	98,2	3.476	1.211	786	+ 1.479
SUMAS TOTALES				505,6	17.175	5.344	3.766	+ 8.065

SUMMARY

Vitamin A does not exert the influence upon protein utilisation demonstrated by the authors for thiamin in the grown-up rat; the presence or absence of this vitamin does not affect weight curves in the least, composition of the animal's body, nitrogen balance, etc., nor does it alter the ratio

loss or gain of proteins in the body of the animal

milligrammes of ingested N

ZUSAMMENFASSUNG

Die günstige Beeinflussung der Proteinausnützung des Thiamins bei der erwachsenen Ratte, wie von den Autoren nachgewiesen wurde, ist beim Vitamin A nicht zu finden. Sein Vorhandensein oder Fehlen in der Diät spielt in der Gewichtskurve keine Rolle, ebenso wenig in der

Körperzusammensetzung des Tieres, und im Stickstoffgleichgewicht.

Der Quotient

Proteingewinn-oder-verlust des Tierkörpers

aufgenommene N mg

wird auch nicht verändert.

RÉSUMÉ

Les auteurs ont démontré que l'influence sur l'utilisation portée possédée par la tiamine chez le rat adulte, n'est pas exercée par la vitamine A, dont la présence ou absence dans la diète n'a pas d'effet sur la courbe du poids, composition du corps de l'animal, bilan azoté, etc... et de même ne modifie pas le quotient

Perte ou gain de protéines du corps de l'animal

Milligrammes N ingérés