

rein, démontrant dans ces études la diminution de la capacité déaminatrice et de l'activité de la glutaminase, formatrice de l'ammoniaque. La adrenalectomie diminue la déamination et l'activité de la phosphatase, n'atteignant cependant pas la glutaminase. Ces modifications dans les fonctions fermentatives du rein, "dyspnéphries", sans lésion rénale, offrent un ultérieur champ clinique et expérimental d'étude de plein d'intérêt.

ULTERIORES ESTUDIOS SOBRE EL CICERISMO Y LA NATURALEZA DEL FACTOR Ch

F. VIVANCO, C. JIMÉNEZ DÍAZ y J. PALACIOS

Instituto de Investigaciones Médicas. Dep. de Nutrición.

Una serie de estudios realizados en los últimos años en este Instituto acerca del valor nutritivo de los garbanzos y del cuadro tóxico que en determinadas circunstancias irrogen éstos a las ratas, al que hemos llamado "cicerismo"^{1, 2, 3}, nos han permitido concluir posteriormente^{4, 5} en esencia lo siguiente: Los garbanzos, cuando son suministrados cocidos, producen en las ratas un cuadro tóxico de sintomatología principalmente neurológica, que acarrea la muerte, el cual no se presenta cuando se dan los garbanzos crudos, molidos, en forma de harina; si se suministra la proteína pura del garbanzo, se obtiene el cuadro del cicerismo, aunque la dieta sea cruda. Todo ello nos ha hecho pensar que en el garbanzo existía algo destruible por el calor, que neutraliza la acción tóxica de algún principio existente en la proteína de esta legumbre; ese "algo", en estudios posteriores nos ha parecido que podía ser la colina, la cual es destruida en la cocción prolongada, y de aquí que la acción tóxica de esas dietas pueda ser neutralizada por la colina o por la metionina⁴. Por otra parte, habíamos demostrado también con anterioridad³ que los extractos de hígado tienen, a pesar de no suponer esta adición un aumento significativo de colina ni metionina, el mismo efecto protector. Como este efecto no aparecía, en cambio, en dietas con suministro de las proteínas conocidas, aceptamos que se trataba de un posible factor hasta entonces no conocido, al cual llamamos "factor Ch". Posteriormente JAFFÉ⁶ confirmó con dietas similares, empleando la soja como legumbre, nuestros resultados. En nuestro concepto, el mismo factor Ch que mejora el valor biológico de las proteínas vegetales, es el que tiene una acción antitóxica frente a la acción nociva de las proteínas de ciertas legumbres.

Como después de nuestros trabajos, que

creemos que han sido los primeros en sugerir la existencia de un factor que eleva el valor biológico de las proteínas vegetales, han surgido otros numerosos que han llevado al conocimiento de la vitamina B₁₂ de los extractos de hígado, del factor del estiércol de vaca, evidentemente similar a aquél, y del factor proteína animal, hemos conceptuado de interés realizar nuevas experiencias en las cuales las ratas sometidas a una dieta con un 20 por 100 de cicerina albúmina del garbanzo (= *cicer-arentinum*) como única fuente de proteínas, son divididas en grupos, uno de los cuales contiene esta dieta basal sin adiciones, y otros el extracto de hígado, metionina y B₁₂, para ver si pueden en sus efectos ser sustituidos unos por otros.

TÉCNICA.

Se utilizaron en estas experiencias 40 ratas jóvenes blancas, de nuestra colonia, treinta y un-treinta y tres días de edad, combinadas por familias, sexos y pesos (pesos iniciales entre 31-54 gr.).

Fueron sometidas a nuestra dieta 75, como basal, cuya composición es:

Dieta basal, 75.

Cicerina purificada	20 por 100
Almidón	61 —
Aceite de olivas	12 —
Grasa de cerdo	3 —
Mezcla salina	4 —

Se añade a la dieta 1,5 litro de agua y se hierva 15-20', hasta consistencia de queso, de tal forma, que un kilogramo dieta seca = 2.240 de dieta final.

Se dividieron las ratas en 5 grupos de a 8 (5 ♂ y 3 ♀). Se distribuyeron así los 5 grupos:

Grupo 1.—Dieta 75, basal.

- 2.—Dieta más metionina.
- 3.—Dieta más vitamina B₁₂.
- 4.—Dieta más extracto de hígado (Hep).
- 5.—Dieta más extracto de hígado autoclavado (Hepaut).

La metionina estaba en la concentración de 100 mgr. en 15 gr. de la dieta preparada; los extractos de hígado son los mismos empleados en series experimentales anteriores al 5 por 100, siendo la dosis diaria de 1 c. c. La vitamina B₁₂ se suministró en dosis de 1,5 gammas los segundo y séptimo días de la dieta en inyección subcutánea, después se les dió una gota diaria de una solución, con lo que la toma era de 0,5 gamma al día; para establecer esta dosis nos hemos basado en los datos obtenidos por FROST, FRICKE y SPRUTH⁸ acerca del efecto de la B₁₂ sobre el crecimiento en las ratas.

Todos los animales recibieron además un suplemento de vitaminas; las liposolubles, dando 4 gotas diarias de aceite de hígado de bacalao, y las del grupo B en una solución dada "per os", con lo que recibían 50 gammas de tiamina, 25 de riboflavina, 20 de piridoxina, 500 de nicotinamida y 100 de pantoténato cárlico.

En todos los animales que no murieron se siguió la experiencia cuatro semanas, midiendo diariamente la cantidad de dieta ingerida y pesándolas en días alternos.

RESULTADOS.

1.—Frecuencia de presentación del cicerismo.

Conforme puede verse en el cuadro I, el comportamiento fué muy diferente de uno a

otro grupo. Todos los animales con la dieta basal presentaron el cuadro del cicerismo típico, en tanto que los animales que recibían metionina o extracto hepático, crudo o auto-

clavado, fueron totalmente protegidos; por el contrario, la B_{12} puede decirse que no protegió, pues se presentó cicerismo en el 87,5 por 100 de los animales.

CUADRO I.—Presentación del cicerismo en cada grupo.

Grupo	Dieta	Adiciones	Número de ratas			Frecuencia de muerte con cuadro neurológico			Observaciones
			Total	♂	♀	Totales	%	Med. días	
1.....	75; 20 % cicerina	Nada	8	5	3	8	100	9,7	
2.....	—	Metionina	8	5	3	0	0	—	Todas sanas a los 28 Días
3.....	—	B_{12}	8	5	3	7	87,5	11,0	Una muere a los 28 días. Otra vive precariamente los 28 días. Mueren 5 de cada grupo (62,5 %) a los 19 días bruscamente, con buen estado general, comiendo bien y ganando de peso
4.....	—	Hep	8	5	3	0	0	—	
5.....	—	Hepaut	8	5	3	0	0	—	

2.—Marcha de la nutrición.

Se computó la cantidad de dieta consumida por los animales diariamente y la marcha de su peso, calculándose, como en experiencias an-

teriores el aumento de peso por cada 100 grs. de dieta, y la utilización proteica. Los resultados (medias de cada grupo) se reproducen en el cuadro II.

CUADRO II.—Marcha de la nutrición en cada grupo.

Grupo	Adición	Medias finales por semana en las cuatro semanas				
		Aumento de peso absoluto	Aumento de peso/100 g. die.	Gramos dieta	Gramos proteínas	Coeficiente útil prot.
1.....	Metionina	14,7	9,7	152	13,6	1,08
4.....	Hep (*)	12,3	6,4	192	17,2	0,71
5.....	Hepaut (*)	12,5	7,1	176	15,6	0,80

(*) En estos grupos las cifras están calculadas con los tres animales que llegaron a los veintiocho días.

Se advierte cómo la metionina eleva el valor nutritivo de la dieta a lo normal, aumentando también el coeficiente de utilización proteica, y los grupos que reciben extracto de hígado llegan a valores próximos a los obtenidos con metionina, si bien lo hacen a expensas de ingerir una cantidad mayor de alimento, por lo cual el coeficiente de utilización es más bajo.

Estos resultados, por consiguiente, confirman nuestros anteriores puntos de vista; el valor nutritivo de la albúmina del garbanzo tiene como razón de limitación su pobreza en metionina y la adición de este aminoácido hace subir aquél, equiparándose entonces al de la caseína. Con el objeto de comprobarlo directamente, se han hecho determinaciones químicas de cistina y metionina en algunas albúminas de leguminosas, la del garbanzo (cicerina), la de la almorta (latirina) y la del *lathyrus odoratus*

(odoratina) comparando los valores con los que da la caseína.

Se expresan en el cuadro valores medios de 6 determinaciones; el N-total se determinó por el mét. de Kjeldahl, la metionina por el mét. de McCarthy y Sullivan modificado y la cistina por el Winterstein y Folin, adaptado por Block, previa hidrolisis de las albúminas por el proceder de Tristam. También se hizo en las harinas de la almorta y el garbanzo la determinación de la colina.

Además, con el objeto de calcular exactamente el aporte de metionina y colina, en cada dieta, y saber lo que el extracto hepático añadía se hicieron similares determinaciones en los extractos hepáticos. Todos estos datos, valores medios de varias determinaciones aproximadamente coincidentes, se han reunido en el cuadro III.

CUADRO III.—Contenido en cistina y metionina de las albúminas de legumbres y los extractos de hígado.

Producto	Nitrógeno total		Metionina		Cistina		Coc. Metionina/cistina
	g.	%	g.	%	g.	%	
A) Albúminas de legumbres.							
Caseína	11,7		3,2		0,27		11,8
Cicerina	11,4		1,6		0,67		2,4
Latirina	12,4		0,78		0,37		2,1
Odoratina	10,6		0,96		0,33		2,9
B) En los extractos de hígado (Hep. y Hepaut.) por 100 c. c. de extracto.							
Producto	N. total g.	Metionina. mg.		Cistina. mg.		Colina mg.	
		Libre	Total (post-hidrol.)	Libre	Total (post-hidrol.)	Libre	Combinado (post-hidrol.)
Hep.	1,40	47	75	15	17	216	0
Hepaut.	1,43	41	78	19	24	76	0
C) Contenido en colina de las harinas:							
De garbanzos	122,5	mg. por 100 gramos.					
De almorta	105,6	mg. por 100 gramos.					

3.—La acción de los extractos de hígado, ¿a qué es debida?

Con los datos anteriores nos ha sido posible ya calcular el ingreso diario en cada grupo de

colina y metionina para poder eliminar que el efecto de los extractos de hígado fuera simplemente debido a una adición de estos principios. Véase en el cuadro IV el resultado del cálculo.

CUADRO IV.—Ingestión diaria de metionina y colina por cada grupo.

Grupo	Ingreso diario de metionina. Mgs.			Ingr. diar. colina mg.	Protección contra el cicerismo (%)
	Con la dieta	Añadida	Total		
Basal	23	—	23	—	0
Colina (*)	24	—	24	10,0	83,4
Metionina	25	118	143	0	100
Hep.	27	0,75	27,75	2,16	100
Hepaut.	27	0,78	27,78	0,76	100

(*) El grupo que recibía colina no corresponde a estas experiencias, sino a las ya publicadas anteriormente⁴.

De todo esto resulta claro que la colina protege contra el cicerismo, y esta protección se hace espontáneamente cuando se da la harina cruda por su contenido en colina, y deja de hacerlo cuando se dan los garbanzos cocidos porque la colina se destruye en su mayor parte por la cocción prolongada. La metionina protege igualmente, siendo termorresistente, cuando se añade a la albúmina (cicerina) del garbanzo. Los extractos de hígado protegen también lo mismo que la metionina y la colina, pero no porque aporten estas sustancias, que ya hemos visto que no lo hacen, sino por contener algún principio en mínima cantidad, sin duda una vitamina que no es ninguna de las conocidas que lleva la dieta basal, y que podemos también afirmar que no es la B₁₂, puesto que las dietas que contienen ésta generosamente, no protegen a los animales del cuadro neurológico.

DISCUSIÓN.

Estas nuevas experiencias confirman las anteriores, demostrando la existencia de un factor al que hemos llamado vitamina o factor Ch, que puede hallarse en la levadura o en los extractos de hígado, hidrosoluble y termorresistente (contra lo que al principio habíamos creído); dicho factor Ch, añadido a una dieta cuya fuente de proteínas sea vegetal, tiene un doble efecto:

- Aumenta el valor biológico de la albúmina vegetal, haciéndole similar al de las proteínas animales (caseína).
- Antagoniza el efecto tóxico de algún principio existente en la proteína de las leguminosas, que produce cuadros principalmente neurológicos (latirismo en los humanos?; cicerismo en las ratas).

Este producto es necesario en las dietas, a menos que éstas contengan un cierto nivel de metionina o colina, en cuyo caso deja de ser necesario; por consiguiente, hay que concluir que interviene en el metabolismo de alguna manera, por lo que corrige el déficit de metionina o colina.

Nuestro factor Ch. ha sido el primero descrito en la literatura que conocemos dotado de estas propiedades, y su acción guarda, sin duda, puntos de contacto con otros que han sido descubiertos después. Ya hemos dicho antes que el factor señalado por JAFFE⁶ confirmando nuestras experiencias parece ser probablemente el mismo; en cuanto a la B₁₂, ya hemos visto que nada tiene que ver con el factor Ch., puesto que no protege contra el cuadro tóxico ni aumenta el valor biológico de las proteínas de las legumbres. El de WOOLLEY, la estrepogenina, que es termolábil y contiene aminoácidos, tampoco tiene relación con la Ch.

Solamente se plantea la posible identidad de nuestro factor Ch. con el factor proteína animal (A. P. F.) de Hammond y Titus, descubierto en la harina de sardinas, que aumenta la capacidad germinativa de los huevos en las gallinas, también demostrado ulteriormente en el estiércol seco de las vacas. Se trata de un factor termoestable, existente también en los extractos de hígado y no necesario cuando la dieta lleva proteínas animales completas. Se ha demostrado también en la caseína bruta, extractos de hígado y de pescados, ostras, gusanos, crustáceos y drosophila (ZUCKER y ZUCKER^{7, 8}). El A. P. F. es sustituible en algunos aspectos por la B₁₂, lo cual ha hecho pensar en la identidad de ambos (OTT y cols.⁸; LILLIE y cols.⁹). NICHOL y cols.¹⁰ también han visto que la B₁₂ puede sustituir al A. P. F. en la nutrición de los pollos. No obstante las investigaciones de STOKSTAD y cols.⁷¹ indican la naturaleza múltiple del A. P. F., que seguramente está integrado por B₁₂ y algo más; este "algo" lo extraen del hígado de cerdo o buey por el agua caliente, hallándose también entre los productos de la fermentación del *streptomyces aureofaciens*. Hidrosoluble, termoestable, existente en el hígado, no es B₁₂; son los caracteres de este factor que nos hacen pensar que no es sino nuestro mismo factor Ch. Es posible que al lado de la B₁₂ no exista solamente un factor coadyuvante sino varios, pues recientemente WINSTEN y EIGEN¹² han demostrado, estudiando por cromatografía de adsorción en papel hasta cinco factores sustitutivos de naturaleza de desoxiribósido.

Como argumentos en pro de la similaridad de acción de estos extractos y nuestro Ch., son muy interesantes los trabajos de OGINSKY¹³; parece evidente que la B₁₂ tiene ciertos efectos comunes con la colina, puesto que protege a las ratas jóvenes de la lesión renal por carencia de colina (SCHAEFFER, SALMON y STRENGETH¹⁴), y tiene una acción lipotrópica en las ratas sometidas a dieta grasa (DRILL y MAC COR-

MICK¹⁵). OGINSKI lo que demuestra es que ratas con dieta a base de una proteína vegetal (de soja), con tiroides para deplecionarlas en B₁₂, cuando después se les da esta vitamina forman a expensas de homocistina y colina o betaina, mucha más metionina que los controles, lo cual indicaría una intervención en el proceso de síntesis de la metionina por transmetilación. Por lo que antes hemos dicho, parece verosímil que nuestro factor Ch. actúe también sobre el proceso de síntesis de la metionina.

Así se explicaría además el paralelismo entre la acción del factor Ch. sobre el valor biológico de la cicerina, y su acción antitóxica. Anteriormente⁵ ya habíamos dicho que existía un cierto parecido entre el cicerismo y el efecto de las harinas agenizadas; en la cicerina, como en las restantes leguminas, existiría en proporción variable un producto tóxico que en las proteínas de cereales se forma por la acción del agene. Este factor tóxico ha sido últimamente aislado en forma cristalina por BENTLEY, McDERMOTT, PACE, WHITEHEAD y MORAN¹⁶, de fórmula C₅H₁₂N₂SO₃, que sería un derivado de la metionina con el NH adicional y probablemente el O unidos al átomo de S. Contra la acción convulsivante del tóxico se puede proteger; en nuestro anterior trabajo, en el que sugeríamos esta similaridad, decíamos el interés que tendría saber si la metionina inhibe el efecto del agene, lo cual nosotros no hemos podido estudiar por no tener harina agenizada; pero, efectivamente se ha visto en estudios recientes de REINER, MISANI y WEISS¹⁷ sobre ratas y conejos blancos que la metionina inhibe las convulsiones, siendo suministrada en una proporción que depende de la cantidad de tóxico que se suministre. Todo parece indicar que el tóxico en cuestión, de constitución química muy próxima a la metionina, entrando en ciertas síntesis ejerce acción letal sobre el organismo, pero que puede ser desplazado por la metionina. Ahora bien; nuestro factor Ch., actuando quizás sobre las mutaciones del grupo metilo en el organismo, tiene el mismo efecto que la metionina en la nutrición y en la protección antitóxica, al menos frente al factor tóxico de las legumbres, que creemos de naturaleza similar al de las harinas agenizadas.

RESUMEN.

Los autores confirman sus anteriores estudios acerca de la existencia de una vitamina que llamaron factor Ch., existente en los extractos de hígado, el cual eleva el valor biológico de las proteínas de vegetales, y protege contra la acción tóxica de las leguminas (laticismo, cicerismo). Se considera que el factor Ch. es uno de los integrantes del A. P. F. (factor proteína animal), y se sugiere como muy probable una relación entre el tóxico natural de las leguminas y el que origina en la proteína de los cereales, la agenización con

Cl_3N . El factor Ch. es sustituible por metionina y parece que interviene de algún modo en los procesos de transmetilación.

BIBLIOGRAFIA

1. JIMÉNEZ DÍAZ, C. y VIVANCO, F.—Rev. Clín. Esp., 5, 234, 263 y 310, 1942.
2. JIMÉNEZ DÍAZ, C. y VIVANCO, F.—Rev. Clín. Esp., 15, 101, 1944.
3. JIMÉNEZ DÍAZ, C. a. VIVANCO, F.—Bull. Inst. Med. Res. Madrid, 1, 27, 1948.
4. JIMÉNEZ DÍAZ, C. a. VIVANCO, F.—Bull. Inst. Med. Res. Madrid, 2, 95, 1949, y Rev. Clín. Esp., 33, 393, 1949.
5. VIVANCO, F., JIMÉNEZ DÍAZ, C., BUYLIA, A., PALACIOS, J. a. ORTI, E.—Bull. Inst. Med. Res. Madrid, 1, 201, 1948, y Rev. Clín. Esp., 31, 236, 1948.
6. JAFFÉ.—J. Biol. Chem., 165, 387, 1946.
7. ZUCKER, L. M. a. ZUCKER, T. F.—Arch. Biochem., 16, 115, 1948.
7. bis. ZUCKER, L. M. a. ZUCKER, T. F.—Arch. Biochem., 18, 513, 1948.
8. OTT, RICKES a. WOOD.—J. Biol. Chem., 174, 1.047, 1948.
9. LILLIE, R. J., DENTON, C. A. a. BIRD, H. R.—J. Biol. Chem., 176, 1.477, 1948.
10. NICHOL, C. A., DIETRICH, L. S., CRAVENS, W. W. a. ELVEHJEM, C. A.—Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 70, 40, 1949.
11. STOKSTAD, E. L., JUKES, T. H., PIERCE, J., PAGE, A. a. FRANKLIN, A. E.—J. Biol. Chem., 180, 647, 1949.
12. WINSTER a. EIGEN.—J. Biol. Chem., 181, 109, 1949.
13. OGINSKY, E. L.—Arch. Biochem., 26, 327, 1950.
14. SCHAEFFER, A. E., SALMON, W. D. a. STRENGTH, D. R.—Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 71, 193, 1949.
15. DRILL, V. A. a. MCCORMICK, H. M.—Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 70, 392, 1949.
16. BENTLEY, McDERMOTT, PACE, WHITEHEAD y MORAN.—Nature, 164, 438, 1949.
17. REINER, L., MISANI, F. a. WEISS, P.—Arch. Biochem., 25, 447, 1950.
18. FROST, D. V., FRICKE, H. H. y SPRUTH, H. C.—Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 72, 102, 1949.

SUMMARY

The authors confirm earlier studies on the existence of a vitamin named by them, Ch factor. It is present in liver extracts and enhances the biological value of vegetable proteins. It also exhibits a protective effect against the toxic action of the leguminous foods (lathyrism or vetch-poisoning, cicerism). It is considered that the Ch factor is one of the integrant constituents of APF (animal protein factor) and a very likely connection is suggested between the natural toxic of leguminous plants and that originated in the protein of cereals, by agenization with NCl_3 . The Ch factor can be substituted by methionine and seems to mediate somehow in the processes of transmethylation.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Verfasser bestätigen früher vorgenommene Untersuchungen über das Bestehen eines Vitamins in den Leberextrakten—das von ihnen Faktor Ch genannt wurde—und, das den biologischen Wert der vegetarischen Proteine erhöht und gegen die toxische Wirkung der Leguminosen (Lathyrismus und Cicerismus) schützt. Man ist der Ansicht, dass der Ch-Faktor ein Bestandteil des tierischen Eiweissfaktors (APF) ist, und man hält es für möglich, dass eine Beziehung besteht zwischen dem natürlichen Gift der Leguminosen und dem, dass in dem Körnerprotein durch die Behandlung mit NCl_3 entsteht. Der Ch-Faktor kann durch Methionin ersetzt werden und spielt scheinbar irgendeine Rolle bei den Prozessen der Transmethylierung.

RÉSUMÉ

Les auteurs confirment leurs antérieures études au sujet de l'existence d'une vitamine qu'ils appellent facteur Ch existant dans les extraits de foie et qui élève la valeur biologique des protéines végétales et protège contre l'action毒ique des légumines (lathyrisme, cicerisme). On considère que le facteur Ch est un des composants du APF (facteur protéine animal), et on suggère comme probable un rapport entre le toxic naturel des légumines et celui qui dans la protéine des céréales produit l'agénisation avec NCl_3 . Le facteur Ch peut être remplacé par méthionine et semble intervenir de certaine façon dans les procès de transméthylation.

BRAQUIESOFAGO CON ECTOPIA GASTRICA

C. GIL TURNER.

(Madrid).

Cuando se estudian las hernias del hiato esofágico es habitual incluir entre ellas la lesión que los autores anglosajones denominan "esófago corto con estómago torácico", no obstante ser opinión casi unánime que esta última no es una hernia en sentido estricto, ya que tal término implica que en algún momento el estómago ha estado alojado en la cavidad abdominal y que posteriormente ha penetrado en el tórax por uno de los orificios anormalmente dilatados del diafragma. La separación de ambos procesos y el considerar al "esófago corto" como entidad clínica independiente tiene más importancia de la supuesta, tanto en el aspecto clínico como en el terapéutico. El tratamiento operatorio a seguir es diferente en uno y otro proceso, porque la reducción del estómago en la cavidad abdominal no puede lograrse, cuando el esófago está acortado, por los procedimientos quirúrgicos usuales en las hernias del hiato. Es cierto, sin embargo, que las dos lesiones guardan concomitancias y tienen relación directa entre sí.

Desde que los rayos X han facilitado el diagnóstico cierto de las hernias del diafragma y no el de probabilidad que tan sólo ofrecía la clínica, se conoce bien la cuestión. Sin embargo, en la mayoría de los trabajos referentes a las hernias diafragmáticas no se menciona la longitud del esófago, habiéndose formulado el diagnóstico sin tener en cuenta la posible existencia del acortamiento del esófago con el siguiente estómago torácico. Hay que pensar, por tanto, que en no pocos de tales casos descritos bajo el título de "hernias del hiato esofágico" existía además el acortamiento del esófago.