

RECERQUES SOBRE L'ACCIÓ OXIDATIVA DE LA VITAMINA B I LA SEVA POSSIBLE MESURA PER LA VALORACIÓ DE L'OXIGEN ABSENT URINARI

per

JAUME PI-SUÑER BAYO

MONTSERRAT FARRAN

Definitivament demostrada l'activació de les oxidacions per la presència de la vitamina hidrosoluble (factor *B*), ha estat el nostre propòsit arribar a una nova prova d'aquesta acció, per un procediment lògic i una tècnica que fins ara no s'havia aplicat a aquest problema. Per altra part, el problema de les disoxidacions, tan suggestiu i tan ample, té possiblement un gran esdevenidor clínic i experimental. No es troba en la bibliografia de llengua espanyola — almenys en el que nosaltres coneixem — un resum, expressió de l'estat actual d'aquestes qüestions, d'un interès tan elevat. I aquest resum és el que ens permetrà d'emmarcar lògicament el nostre petit treball experimental en aquestes pàgines, més d'orientació i plantejament hipotètic de qüestions molt diverses, que de demostració indiscutible de fets nous.

Per aquestes raons, hem col·locat la part experimental al final, precedida d'un estudi de l'acció de la vitamina *B* sobre les oxidacions i d'un segon capítol, que tracta del problema de l'eliminació del carbon per la respiració, en forma de CO_2 i per l'orina en distints cossos més o menys oxidats, i llurs relacions fisio-patològiques.

I

LA VITAMINA *B* COM EXCITANT DE LES OXIDACIONS

Els primers estudis sobre la vitamina *B*, hidrosoluble, es referien a la seva acció antineurítica i a la clínica de l'avitaminosi. Són in comptables els treballs publicats sobre aquestes qüestions, i no és necessari resumir-los ara.

La farmacologia de la vitamina *B* ha ampliat les seves observacions en els últims anys, i aquestes notes es dirigiran cap a la seva acció sobre les oxidacions orgàniques. Ha adquirit tanta importància aquesta acció, que se separa ja clarament un factor antineurític i un factor de creixement (factor de creixement que bé pot estar en relació amb aquests canvis en les oxidacions, i més recentment s'intenta separar en absolut d'aquests dos factors, un factor oxidatiu. Propietats físiques i químiques, desigualtat del seu repartiment en la naturalesa, diferents accions, etc., recolzen aquestes distincions) Un bon resum d'aquesta qüestió es troba en el llibre de Randoïn i Simonnet (1), a què ens referirem mantes vegades.

Entre els treballs clínics esmentarem solament els de Walshe (2), que poden considerar-se com un pas dels estudis sobre el beri-beri a les qüestions que ens ocupen. Afirma — afirmació per altra part ja clàssica en el seu primer punt — que el beri-beri reconeix un origen tòxic, probablement per alteracions metabòliques, i que la vitamina *B* actua sobre la neuritis indirectament, desintoxicant l'organisme, amb una acció regularitzadora del dis-

metabolisme, i compara, amb encert, el beri-beri a les formes nervioses de la urèmia, d'evolució lenta.

La forma d'oxidació perfecta del carbon és el CO_2 . La relació entre el CO_2 eliminat i l'oxigen absorbit (quocient respiratori) ens podrà donar una idea de l'estat general de les oxidacions. Amb una dieta composta solament d'hidrats de carbon, el quocient respiratori normal seria igual a la unitat.

Però els glúcids formen l'únic grup d'aliments eliminables teòricament, en llur desassimilació, totalment per la respiració. Els pròtids i els lípids exigeixen per a llur combustió més oxigen que CO_2 produït, ja que deuen oxidar, també, altres substàncies que s'eliminen per l'orina. Per això, en l'home sotmès a una dieta mixta, el quocient respiratori pot considerar-se com a normal entre 0'88 i 0'92.

En els animals alimentats amb dietes pobres en vitamina *B*, el quocient respiratori baixa fins a valors entorn de 0'70 o més baixes (Abderhalden 3 i 4, Okada 5, etc.). Ramoino ha trobat quocients respiratoris fins de 0'44, que pugen ràpidament per l'administració de la vitamina *B* (6).

Però el quocient respiratori pot disminuir per dos mecanismes: disminució de la producció de CO_2 o augment del consum d'oxigen.

Els treballs de Groebels (7 i 8), Asada (9) i especialment de Bickel (10), que tan clarament ha vist aquestes qüestions, demostren que el consum d'oxigen roman pràcticament invariable o que els seus canvis són inconstants.

En canvi, contínuament, tots els investigadors han observat una disminució en la producció de CO_2 . Esmentem solament Abderhalden (3 i 4), Bickel (11, 12 i 13), Anderson i Kulp (14), Bickel i Collazo (15).

Aquesta baixa del quocient respiratori amb disminu-

ció de la producció de CO_2 , indica que escapen molècules de carbon mal oxidades, que no tenen altra via d'eliminació que l'orina. El carbon eliminat en conjunt és probablement el mateix, però els sumands són distints, i augmenta el carbon urinari (disoxidat) en la quantitat que disminueix el respiratori (ben oxidat). Cap a una nova demostració d'aquesta hipòtesi està encaminat el nostre treball.

Confirma aquestes idees la disminució de la producció de calor, observada per Anderson i Kulp (14), per Farmer i Redenbaugh (16) i per molts d'altres. A major oxidació, correspon sempre major desprendiment de calor, i el fet que les substàncies no arribin a llur oxidació final i es quedin en fases intermèdies, amb menor desprendiment energètic, explica aquesta disminució en la producció de calor.

I una nova confirmació són encara les investigacions de Shinoda (17) sobre l'augment del quocient urinari C/N en els animals en règim de carència de vitamina B. Com que la influència de la vitamina B sobre el metabolisme dels pròtids és escassa, resulta que el nitrogen eliminat és pràcticament el mateix, i el quocient C/N augmenta en relació al quocient normal, per augment del carbon eliminat per l'orina; una conseqüència més d'aquesta disoxidació, que fa minvar la quantitat de carbon eliminada per la respiració.

Podríem aportar moltes d'altres cites per a confirmar aquests fets. No es tracta d'esgotar la bibliografia, sinó solament de precisar uns punts que serveixin de base a la nostra tesi i justifiquin la nostra sèrie experimental. A més, poden trobar-se molts treballs que estudien el problema de la disoxidació per manca de vitamina B des d'altres punts de vista. Així, Ahlgren (18) s'ha ocupat de la respiració dels teixits; molts d'altres autors del metabo-

lisme proteic i dels lípids. Resums i bibliografia poden fàcilment trobar-se en les obres de Funk (18), Randoïn i Simonnet (1), en l'excel·lent article de Mc Collum (19), reproducció de la seva conferència en la Mayo Foundation, el 1924.

Demostrada ja suficientment la jugulació de les oxidacions per deficiència o carència de la vitamina *B*, anem a estudiar ràpidament les seves possibles conseqüències clíniques.

Segons Duchter (20), la manca de vitamina *B* produeix una acumulació d'aliments poc metabolitzats per reducció de les oxidacions, i d'això en resulten productes tòxics que donen lloc a una neuritis secundària. Idees aquestes, molt properes a les exposades anteriorment, degudes als treballs de Walshe (2). Clarament va dibuixant-se aquesta idea de la intoxicació per productes mal metabolitzats i la neuritis secundària. L'avitaminosi *B* seria un cas més de disoxidació, d'origen distint, però clínicament pròxim a la diabetis, a certs casos de magror essencial, a tipus especials de desnutrició, possiblement a alguns tipus d'obesitat; el grup de trastorns metabòlics que Bickel qualifica de «carbonúria disoxidativa» (21), que Bouchard (22), el 1882, anomenava malalties per retard de nutrició, que Pi Suñer agrupa de manera provisional sota la denominació comuna de paradiabetis (23 i 24). En la segona part d'aquestes notes insistirem sobre aquestes idees de Patologia general.

Remarquem dues noves aportacions de gran interès: Bickel (12) afirma que en l'avitaminosi augmenten considerablement els productes del metabolisme intermediari, i Karr (25 i 26) diu que la vitamina *B* augmenta notablement l'apetit en animals d'experimentació i en l'home, mentre que una de les primeres característiques de l'avitaminosi *B* és la pèrdua absoluta de l'apetit i l'amagri-

ment. ¿No podria estar aquest amagriment prop de l'amagriment no hipertiroidià, de l'amagriment de causa desconeguda que, a partir de Franck i Falta, es tracta, amb èxit, per la insulina? En un i en altre cas, augmenta la densitat urinària, sense variacions apreciables en l'eliminació de clorurs i d'urea. L'augment de la densitat es fa per cossos disoxidats, ja coneguts (acetona, certs aminoàcids), ja desconeguts. Evidentment, aquesta suggestió no té més que una valor d'hipòtesi, però, ¿són tants els fets que lliguen aquests capítols de la Patologia, aparentment tan allunyats! Nous fets han de venir, segurament, a aclarir aquestes nocions.

Tots aquests treballs resumits fins ací comproven l'existència d'alteracions per disoxidació en els casos de carència de vitamina *B*. També ha estat comprovada — encara que amb major dificultat — la condició recíproca, l'augment de les oxidacions per l'administració de vitamina *B*. Aquest augment és tan constant, en observacions realitzades en bones condicions tècniques, que Green ha proposat aprofitar l'acció excitant de la vitamina *B* sobre les oxidacions per a la seva valoració farmacològica (27).

El nostre propòsit ha estat demostrar també aquesta activació de les oxidacions. Més endavant detallarem la tècnica i els resultats. Un inconvenient fonamental es presenta sempre que es tracta de produir una hipervitaminosi del grup *B* ben controlada; l'extrema difusió de la vitamina hidrosoluble, la més comuna, que fa impossible la supressió de determinat grup d'aliments per a valorar exactament la que es pren en forma de preparació farmacèutica, ja que hauríem de suprimir pràcticament tots els aliments. En els nostres casos hem donat als animals i als subjectes, dietes diàriament iguals i composades d'aliments frescos, amb supressió absoluta de l'ensiam i

de la cervesa (dues fonts abundants de vitamina *B*), i, fins on ha estat possible, de verdura i fruita. Per a l'administració de vitamina *B*, en forma còmode, en els dies necessaris, hem fet ús dels comprimits de nateïna Llopis. El contingut de vitamina *B* en la nateïna Llopis és suficientment concentrat per a poder obtenir resultats satisfactoris emprant un règim alimentós corrent.

II

LES DUES VIES D'ELIMINACIÓ DEL CARBON

El carbon entra al nostre cos amb els tres tipus d'aliments : glúcids, pròtids i lípids. El metabolisme del carbon constitueix possiblement la base de l'energètica vital. El problema del metabolisme intermediari del carbon ha preocupat preferentment els investigadors en els últims llustres, i probablement es presenten distintes formes de metabolisme intermediari.

Per oxidacions successives, després de passos múltiples, el carbon arriba a la seva oxidació màxima — CO_2 — i és eliminat pels pulmons. En cap cas, però, el carbon no és eliminat en la seva totalitat per aquesta via : sempre queda un romanent de carbon urinari, que, excepte en el cas de la urea, com veurem més endavant, representa una menor oxidació.

És per això que els treballs sobre l'eliminació del carbon són de dos tipus : estudi del quocient respiratori i estudi de distints coeficients d'eliminació urinària, i encara, en els últims temps — Bickel i Kauffmann — Cosla (21) — de relació entre tots aquests factors.

Deixem de costat els treballs que s'ocupen de modificacions del quocient respiratori : hem orientat aquestes notes cap a l'estudi de l'eliminació del carbon per l'orina, i altra cosa ens separaria de la nostra via.

L'estudi de l'eliminació del carbon per l'orina ha passat per distintes fases. Primerament, la mesura simple de la quantitat d'aquest carbon; constitueix però una operació complicada i llarga, inclús emprant, com es fa actualment, micromètodes (Dennstedt, 28), i de poca significació fisiològica. Per aquesta raó, s'anà de seguida a l'estudi de distints coeficients urinaris.

Tots ells han tingut i segueixen tenint gran valor per a l'estudi de la desassimilació i, en conseqüència, del metabolisme intermediari i de l'elaboració renal, però presenten diversos defectes, uns d'ordre tècnic, donades les dificultats que presenta la determinació del carbon o la valoració calorimètrica del residu urinari; altres, de naturalesa biològica. Molts factors poden alterar aquests coeficients, per raons exògenes; altres voltes, en canvi, alterant-se profundament les condicions metabòliques, el quocient no varia, per augmentar simultàniament, en quantitats equivalents, el numerador i el denominador. A més, els principals entre aquells quocients (Pi Suñer, 29), poden substituir-se per la valor de l'oxigen absent o vacant de Müller (30), que després exposarem, més senzill de determinar, i, de seguida per l'anomenat coeficient d'oxidació.

Moltes de les substàncies carbonades de l'orina són encara mal determinades. Pregl (31) sumant el carbon i el nitrogen de les matèries trobades en l'orina per una anàlisi acurada, ha obtingut una valor molt més petita de la resultant de l'anàlisi elemental directa de la mateixa orina; o sigui, que, a més de totes les substàncies nitrogenades i carbonades conegudes, una part d'aquests

elements s'elimina sota forma de cossos encara no identificats, i que són passos del metabolisme intermediari.

A partir d'aquestes nocions, Bickel i Kauffmann-Cosla (21) arriben al concepte de la carbonúria disoxidativa. Prescindint dels distints components urinaris i ocupant-nos solament dels seus elements, veurem que de la relació entre aquests pot deduir-se l'estat de la desassimilació metabòlica. Les relacions mútues entre carbon, nitrogen i oxigen són suficients — en absoluta independència dels cossos complexes que formin — per a informar-nos de l'estat de la desassimilació. La desassimilació, almenys en la seva segona fase, està constituïda per una sèrie d'oxidacions successives, i serà tant més perfecta com més lluny arribin aquestes oxidacions.

La carbonúria disoxidativa no constitueix una entitat nosològica ben definida : moltes de causes poden produir-la, d'òrigens molt diversos. Indiquem, entre altres, l'estada a altures superiors a 4,000 metres (Zuntz i Loe-wi, 32); durant el treball muscular intens (Straub, 33), per augment en l'orina de l'àcid làctic. També s'observa l'eliminació d'àcid làctic per l'orina i, conseqüentment, hipercarbonúria en la intoxicació per l'òxid de carbon, en les anèmies greus i en les cardiopaties que comprometen l'hematosi normal (Collazo, 34). En aquests casos és freqüent trobar a l'orina àcid diacètic, acetona, àcid glucurònic, àcid oxàlic, glucocola, leucina, tirosina.

Analitzem aquests casos : es tracta, a voltes, de dificultats respiratòries per falta de tensió parcial d'oxigen; en l'altre cas, l'aire respirat suficient per a mantenir les combustions fins al final, o quasi, en condicions de repòs, es fa insuficient per a mantenir l'activitat excepcionalment augmentada, i queden els productes a mitja combustió;

en un altre, és l'òxid de carbon que es combina amb l'hemoglobina, dificultant que l'oxihemoglobina arribi als teixits, proporcionant l'oxigen necessari per a les combustions; en l'anèmia és la insuficiència hemoglobínica que dificulta aquest aport, fins i tot comptant amb oxigen suficient en l'aire; la circulació defectuosa, impeding, per una banda, una hematosi perfecte en els pulmons i, per altra, l'arribada de sang en quantitat suficient als teixits, explicaria la carbonúria en les cardiopaties; però sempre és un obstacle que en una forma o altra s'oposa a la perfecta oxidació. Tots aquests casos de carbonúria, d'origen tan divers a primera vista, obeeixen a una causa comuna : la dificultat de l'oxidació, en l'arribada d'oxigen als teixits o en el seu aprofitament.

Dificultats internes poden també donar lloc a carbonúria. Aquest és el cas de l'avitaminosi. En l'avitaminosi per arròs decorticat, en el beri-beri, es dona el cas que, malgrat no estar suficientment pertorbada la digestió ni l'absorció alimentosa, i essent l'alimentació suficient des del doble punt de vista material i calòric, els animals o els malalts perden ràpidament pes, i arriben a voltes fins al 50 per 100 de llur pes anterior, amb absoluta desaparició de les reserves grasses. Ja hem parlat abans dels treballs de Karr (25 i 26) i la possible relació entre això i la magror essencial com a conseqüència de la disoxidació. Bickel (13 i 21) insisteix, també, sobre aquesta analogia i en la possibilitat de tractar aquests estats per vitamina B i per insulina amb èxit. En la primera part d'aquests treballs ens hem ocupat dels trastorns de l'oxidació per carència de vitamina B. Insistim ací perquè això constitueix el nus de la nostra orientació; orientació suggerida per Pi Suñer en les seves lliçons sobre la patogènia de la diabetis (35). Pi Suñer i Puche (36) han demostrat, a més, la presentació de les reaccions

diabètiques primàries, hiperglucèmia i hiperlipèmia, per jugulació oxidativa, en la intoxicació pel cianur; un de nosaltres s'ocupa també actualment d'aquestes qüestions en relació amb l'oxidació tissular (37), i estan per publicar encara, del fet entre nosaltres, les interessants investigacions de Puche (38) entorn de les relacions immediates de la glucèmia en l'asfíxia per compressió traqueal i la determinació de les vies nervioses de la seva regulació.

Els coloms avitaminòsics eliminen acetona per l'aire expirat, i en el contingut de la seva cloaca es troba àcid oxibutíric i diacètic. Augmenta també el nitrogen urinari, i això fa que, malgrat el produir-se la disoxidació del carbon, el quocient C/N no sigui molt elevat.

La vitamina B, per últim, conté principis que afavoreixen la respiració, i que han estat anomenats genèricament, i sense penetrar en llur especificitat química, «Atmungstoffe», per Abderhalden. El balanç negatiu hidrocarbonat a conseqüència de la manca d'aquestes substàncies afavoridores de la respiració interna en l'avitaminosi B, produint una major eliminació de carbon urinari, ha estat perfectament establert per Kauffmann-Cosla (39) i Schimizu (40).

Aquest carbon disoxidat, urinari, a què ens hem referit tantes de vegades, i l'augment del qual pot ésser conseqüència de diferents causes, i entre elles l'avitaminosi, procedeix, en general, indiferentment de pròtids, lípids i glúcids.

La importància fisiològica i patològica d'aquesta noció ens porta al problema tècnic de la mesura d'aquest carbon disoxidat urinari o d'una valor equivalent. Els treballs de Müller (37) han versat repetidament sobre això.

Hi ha manera de determinar, per càlcul, l'oxigen absent d'una substància de composició coneguda.¹ En l'orina això no és possible. En primer lloc es requeriria una anàlisi quantitativa rigorosa dels components per a calcular després l'oxigen absent de cada un d'ells i sumarlos, i fins i tot d'aquesta manera, ja hem vist que la suma de les valors corresponents als cossos nitrogenats i carbonats de l'orina dóna una quantitat d'aquests elements inferior a la que es troba per anàlisi elemental.

1. Els components elementals de l'orina poden dividir-se en dos : electropositius i electronegatius. Són dels primers, carbon, hidrogen i sofre; entre els segons, l'oxigen i el nitrogen. La forma d'oxidació perfecta dels primers la constitueixen els àcids respectius (carbònic i sulfúric) i l'aigua. Quant al nitrogen, s'elimina sota forma d'amoníac combinat amb l'hidrogen que no hagi estat necessari per a la formació d'aigua o d'àcids. Aquest amoníac es combina en l'organisme amb l'àcid carbònic per a formar urea en un procés de deshidratació. Sumant per una banda els elements electropositius, multiplicats per llurs valències, i, per l'altra, els electronegatius, també multiplicats per les valències respectives, i dividint la diferència entre les dues sumes per dos (valències de l'oxigen), tindrem l'oxigen vacant pel cos químic estudiat; entenent per oxigen vacant, o millor dit, oxigen absent, el que manca en la molècula per a arribar a la seva completa combustió.

Un exemple aclarirà millor aquestes explicacions. Suposem el cas de la creatinina : $C_4H_7N_3O$.

El carbon i l'hidrogen, multiplicats per llurs valències, donaran:

$$\begin{array}{l} C \dots\dots\dots 4 \times 4 = 16 \\ H \dots\dots\dots 7 \times 1 = 7 \\ \text{Essent la suma de } 16 + 7 = 23 \end{array}$$

En el que es refereix als elements electronegatius, tenim:

$$\begin{array}{l} N \dots\dots\dots 3 \times 3 = 9 \\ O \dots\dots\dots 1 \times 2 = 2 \\ \text{Essent la suma de } 9 + 2 = 11 \\ \text{Ara, restant} \dots\dots 23 - 11 = 12 \end{array}$$

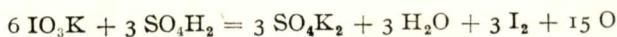
Ara 12 dividit per 2 (valències de l'oxigen), dóna 6. 6 àtoms d'oxigen són necessaris per a cremar completament 1 molècula de creatinina.

Mirem-ho : 4 àtoms de carbon requereixen per a llur combustió, formant CO_2 , 8 àtoms d'oxigen. En tenim solament 1 en la molècula; ens en falten 7. Però el nitrogen (3 molècules), per a passar a NH_3

Avui disposem d'un mètode que valora directament l'oxigen absent total d'una mostra d'orina, independentment de la quantitat de molècules disoxidades de cada tipus que s'hi troben.

El fonament d'aquest mètode (que no és més que una aplicació particular del de Strebiger) (41) per a la valoració del contingut en oxigen de les substàncies orgàniques és el següent.

En bullir una solució de iodat potàssic en presència d'àcid sulfúric, els dos cossos reaccionen en forma que pot suposar-se aproximadament aquesta reacció:



En l'orina, com hem dit repetidament, les substàncies orgàniques portades al límit de llur oxidació formarien anhídrid carbònic, sulfúric i aigua, eliminant-se el nitrogen

requereix 9 àtoms d'hidrogen, i solament en tenim 7 : 1 molècula d'aigua del mitjà ens proporcionarà els 2 àtoms d'hidrogen que manquen, i junt amb ell, 1 àtom d'oxigen, amb el qual, els 7 àtoms d'oxigen que ens mancaven per convertir el carbon en anhídrid carbònic, seran solament els 6 àtoms d'oxigen absent trobats per càlcul.

Si repetim el càlcul i el raonament per la urea $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$, tindrem:

C.....	1	×	4	=	4		N.....	2	×	3	=	6	
H.....	4	×	1	=	<u>4</u>		O.....	1	×	2	=	<u>2</u>	
						8							8

Restant 8 de 8, obtenim una valor d'oxigen absent = 0, o sigui, que la urea representa el màxim possible d'oxidació entre els cossos nitrogenats, i que si l'orina no contingués altra substància nitrogenada, l'oxidació seria perfecta.

Mirem-ho per raonament, encara que, ja comprovat per càlcul, sigui innecessari:

1 àtom de carbon necessita 2 àtoms d'oxigen; ens en manca, doncs, un en la molècula; aquest ens el darà la molècula d'aigua que, a més, aportarà 2 àtoms de H, necessaris per a completar, junt amb els quatre que ja té la molècula d'urea, els 6 necessaris per a la conversió dels dos nitrogens en amoníac. Així tindrem que, mitjançant l'aportament d'1 molècula d'aigua, la urea es convertirà en aigua, anhídrid carbònic i amoníac, sense necessitat de cap àtom d'oxigen; el seu oxigen absent és igual a 0.

sota forma d'amoníac, i no requerint, en conseqüència oxigen per a la seva formació. Si es fa bullir una quantitat coneguda de iodat en un medi d'àcid sulfúric i orina, es veurà que s'ha gastat tant iodat com oxigen sigui necessari per a la total oxidació de l'orina, fins a assolir els cossos esmentats. La determinació de la quantitat de iodat gastada es fa fàcilment, en acabar, amb hiposulfit.

El procediment exacte recomenat per Müller i practicat per nosaltres és com segueix:

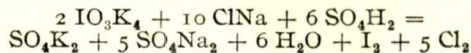
En un matràs de Jena, de cabuda de 300 a 500 cc., es posa una quantitat determinada de iodat potàssic pur, pesada amb tota exactitud. El iodat ha d'estar en absolut lliure de iodur. Generalment s'empren entre 50 cgr. i 1 gr. per 10 cc. d'orina de conill o orines similars; en certs casos, i especialment quan per endavant se sap que l'orina conté glucosa, seran necessàries quantitats de iodat entre 1 i 2 gr. (Treballant amb orines humanes i de gos, nosaltres hem emprat entorn de 75 cgr. de iodat per a cada determinació, excepte en les d'orines diabètiques, en què hem despès 1 o 2 gr. de iodat potàssic). S'ha de pesar cada vegada el iodat en substància i no fiar-se de les solucions valorades, que poden variar de títol per diferents circumstàncies i no es conserven bé; de l'exactitud en la mesura del iodat inicial depèn la valoració de l'oxigen absent, que es fa per diferència.

S'afegeix un xic d'aigua destil·lada i 30 cc. d'àcid sulfúric concentrat, i es deixa reposar la barreja durant 15 minuts. Després d'agitar lleugerament, s'hi afegeixen 10 cc. d'orina. L'orina ha d'ésser molt neta; cal separar-ne acuradament els pèls o altres elements que contingüés. D'ésser possible, s'haurà filtrat prèviament amb llana de vidre. Sense agitar es passa el matràs a un bany de sorra, en una vitrina de tir forçat, perquè els vapors no molestin, i es fa bullir, bo i controlant la temperatura,

que cal mantenir entorn de 200°. Mentre es desprenen vapors de iode, té lloc la descomposició de la substància orgànica per oxidació; la desaparició d'aquests vapors indica la fi de l'operació, i aleshores queda un líquid transparent, de color groc clar.

Es deixa refredar uns minuts i es dilueix en petita quantitat — uns 50 cc. d'aigua destil·lada —; el líquid anirà canviant de color, passant a ocre, roig o violeta, per desprendiment de iode, i aleshores torna a bullir-se, amb un capil·lar d'ebullició, submergit en el líquid per a regularitzar-la, després d'haver afegit major quantitat d'aigua. El líquid es decolora i queda clar. Es passa, un cop fred, a un matràs aforat de 500 cc., completant fins a la marca amb aigua destil·lada; 200 cc. ben medits, agafats amb una pipeta, s'utilitzaran per a una doble determinació pel mètode de Kjeldahl. Altres porcions de 100 cc. cada una s'utilitzaran per a la valoració del iodat restant, agregant iodur potàssic pur, pro anàlisi, fins que el líquid prengui una coloració fosca, evident, i es titularà amb solució decinormal d'hiposulfit. Cap a la fi de la titulació, quan està a punt de desaparèixer la coloració fosca, s'afegeixen unes gotes de solució de midó a l'1 per 100, preparada en calent al bany maria, que actua com a indicador, prosseguint la titulació fins a la total desaparició del color blau.

Una complicació prové del clorur sòdic que conté l'orina, el qual reacciona amb el iodat en aquesta forma:



Per a calcular la valor d'aquesta font d'error i descomptar-la, es valora abans el clor de l'orina pel mètode de Volhard, amb solució decinormal de nitrat de plata i solució de sulfocianur potàssic, emprant com a indicador l'alum ferropotàssic. La diferència entre el nitrat de

plata i el sulfocianur gastats, en centímetres cúbics (essent ambdues solucions deci-normals) multiplicada per 3,546, ens dóna directament, en mil·ligrams, la quantitat de clor que contenia la quantitat d'orina examinada, generalment 5 cc. Per una senzilla multiplicació es porta aquesta quantitat a 1 litre d'orina.

El càlcul de l'oxigen absent en 10 cc. d'orina requereix les següents dades:

a) Iodat potàssic en mil·ligrams.

b) Hiposulfit gastat per a titular el iodat restant després de l'oxidació de les matèries orgàniques, en 100 cc. de la dilució de l'orina (1/5 de la quantitat total).

c) Clor en mil·ligrams per 10 cc. d'orina.

Amb aquestes dades, el càlcul es realitza en la següent forma:

Oxigent absent en 70 cc. d'orina, igual a:

$$0'1869 \times (a - b \times 17'84 - c \times 1'207)$$

Exemple:

Quantitat d'orina en 24 h.....	1,200 cc.
Glucosa.....	Negativa
c = Clor en 10 cc. d'orina (Volhard).....	0'063 gr.
Nitrogen total en 24 h. (Kjeldahl).....	15 gr.
a = Iodat potàssic.....	0'750 gr.
b = Hiposulfit gastat (sol. N/10).....	18'5 cc.

$$\begin{aligned} 18'5 (b) \times 17'84 &= 330'04 \\ 750 (a) - 330 &= 420 \\ 63 (c) \times 1'207 &= 76'041 \\ 420 - 76 &= 344 \\ 0'1869 \times 344 &= 64'293 \end{aligned}$$

64'293 mgr. és l'origen absent per 10 cc. d'orina que hem agafat. Referit a 1,200 gr., ens dóna 7'68 gr. d'oxigen absent en l'orina eliminada en vint-i-quatre hores pel subjecte.

III

PART EXPERIMENTAL

Vistos els antecedents exposats a les pàgines anteriors, el problema concret que ens ha interessat és la demostració de la facilitació de les oxidacions per la vitamina *B*, investigant la disminució de l'oxigen absent urinari. D'una oxidació més perfecta hem vist que es deriva una molècula urinària més elaborada i, per tant, amb menys oxigen absent.

Iniciats els treballs amb gossos, ens trobàrem amb dificultats de diferents ordres, que ens donaven resultats molt variables, dificultats per altra part universals, ja que Bickel (42), Allen Goldbloom (43), Goldschmidt (44) i Robert Peskin (54) troben, també, valors molt distintes d'un dia a l'altre, i per a arribar a conclusions han d'estudiar mitges aritmètiques de períodes de cinc dies.

El fet de no haver resolt completament aquestes dificultats tècniques en el «Pathologisches Institut» de Bickel, després de portar quasi un any treballant en aquestes qüestions, ens decidí a abandonar de moment aquesta ruta, per a reprendre-la més tard, amb tot el temps necessari.

Iniciàrem aleshores la sèrie experimental en l'espècie humana, i podem presentar avui set casos estudiats.

Cal advertir que la nostra instal·lació actual no ens permet més que quatre determinacions per dia.

A continuació de cada quadre examinarem breument

els resultats i les condicions dels subjectes i animals d'experimentació. Diguem per endavant, respecte als mètodes, que la valoració de l'oxigen absent està feta sempre pel mètode de Müller (30) ja descrit. El nitrogen, amb el de Kjeldahl, emprant per cada determinació 100 cc. de la dilució d'orina, i per a la destilació i la valoració, solucions deci-normals d'àcid sulfúric i sosa. Els clorurs es determinen en tots els casos pel mètode Volhard. A més, es calcula en cada observació el coeficient d'oxidació, dividint l'oxigen absent total en vint-i-quatre hores pel nitrogen total. Donem sempre en els quadres les valors del clor per 1,000 cc. perquè ens donin una idea de la concentració de l'orina.

És ben clar que cal donar una major valor a l'oxigen absent total en vint-i-quatre hores, que al trobat en 10 cc. d'una sola micció, ja que aquest depèn en gran part de la concentració de l'orina, segons la quantitat que s'hagi eliminat durant el dia.

I, finalment, abans d'aquestes investigacions, cal assegurar-nos d'una perfecta eliminació renal. En els casos humans, pels seus antecedents i les investigacions pertinents, podem assegurar-la. En els gossos, sabem solament que llurs orines no contenen albúmina i adapten bé el contingut salí a la dieta.

Observacions en gossos. — Dos gossos (mascles) de bon aspecte, en bones condicions de nutrició, es pesen i es guarden en gàbies arreglades per a recollir l'orina.

Durant els dies de l'experiència no surten de les gàbies, i no verifiquen, doncs, cap esforç físic.

L'alimentació està constituïda segons s'indica en la columna corresponent en les taules, i la nateïna s'administra en els dies indicats, d'una sola vegada, triturada amb carn, que es dona a l'animal abans que els altres aliments, per a assegurar l'administració de la dosi indicada. En

tots els casos de la nostra sèrie hem administrat per dia dotze tablettes de nateïna als gossos, d'una sola vegada, i els subjectes humans, en tres vegades (esmorzar, dinar i sopar).

GOS A (10 kg.)

Quantitat orina 24 hores	N. total 24 hores	Oxigen abs.		Cl. per 1,000	Coef. oxid. O aus./N	Alimentació
		per 10 cc.	total 24 h.			
cc.	gr.	mgr.	gr.	gr.		
510	8'6	79	4	6'2	0'471	500 gr. patates 500 gr. carn
640	8'4	77	4'9	4'6	0'583	500 gr. patates 500 gr. carn
450	7'5	95	4'27	3'6	0'569	500 gr. patates 500 gr. carn
250	7'2	95	2'37	4'1	0'329	500 gr. patates 500 gr. carn
500	7'5	8	4'14	6'1	0'552	1 litre llet
520	7'6	110	5'72	3'9	0'752	1 litre llet
750	8'8	103	7'72	2'6	0'877	1 litre llet (diarrea)
450	6'1	140	2'1	6'1	0'344	En dejú
460	8'5	107	4'9	7'1	0'576	1,000 gr. pulmó
750	9'2	55	4'1	2'2	0'445	Ídem i nateïna
500	8'1	80	4	2'9	0'493	Ídem i nateïna
500	9'4	87	4'78	1'1	0'508	Ídem i nateïna
640	8'6	62	4'58	2'1	0'532	Ídem i nateïna

Pes al final de l'experiència, 9'700 kg.

El gran poder de distendre's de la bufeta urinària del gos dificulta les observacions, si no es practica diàriament el cateterisme, per la gran diferència entre la quantitat d'orina expel·lida — no eliminada — d'un dia a l'altre. És un fenomen que s'observa sovint en gossos que han orinat en la gàbia quantitats d'orina de 150 a 250 cc., i que en treure'ls per a rentar-los, operar-los, etc., orinen d'un cop fins a 1 litre.

Observi's en la taula anterior l'augment de l'oxigen absent total durant la diarrea abundant, per doble mecanisme : augment de la quantitat d'orina per impos-

sibilitat de separar en absolut aquesta de la diarrea, i eliminació per via rectal — barrejant-se amb l'orina — de substàncies possiblement mal digerides.

Si estudiem l'eliminació d'oxigen absent per 10 cc. d'orina (ja hem dit abans l'inconvenient que es presenta en valorar la total, per la irregularitat en els volums d'orina), sembla indicar-se una disminució de l'oxigen absent, que de valors per sobre de 100, passa a xifres entorn o per sota de 80.

Aquesta taula ens indica, a més, la influència del règim en les valors de O. a. Vegi's, si no, el dia en què l'animal roman en dejú, com baixa aproximadament a la meitat de les valors trobades normalment. Es troba en la taula una altra xifra de valor semblant, però és discutible per haver-se expel·lit aquell dia solament 250 cc. d'orina.

Gos B (8'650 kg.)

Quantitat orina 24 hores	N. total 24 hores	Oxigen abs.		Cl. per 1,000	Coef. oxid. O aus./N	Alimentació
		per 10 cc.	total 24 h.			
cc.	gr.	mgr.	gr.	gr.		
110	6'8	180	1'98	1'5	0'291	En dejú
570	7'9	82	4'60	9'1	0'582	1,000 gr. pulmó (diarrea)
470	8'5	95	4'40	3'2	0'517	Ídem i nateïna (diarrea)
700	8'3	70	4'90	2'1	0'590	Ídem i nateïna (diarrea)
480	8'8	91	4'30	3'1	0'488	Ídem i nateïna (diarrea)

Pes al final de l'observació, 5'550 kg.

La curtesa de l'observació i les irregularitats en l'eliminació urinària, impedeixen de valorar exactament els resultats obtinguts en aquest animal, que presentava, a més, una diarrea persistent, malgrat les altes dosis de bismut que se li administraven. Considerable disminució de pes (1'100 kg) en cinc dies, per causa no analitzada.

Observacions humanes. — Han estat portades a cap recollint amb tot rigor l'orina total de vint-i-quatre hores. La dosis de vitamines administrada ha estat de dotze tablettes de nateïna Llopis, en tres vegades, en els àpats. S'han verificat cinc observacions, en les quals els pacients han realitzat llur ocupacions habituals, però hem procurat estandarditzar, fins on hem pogut, l'exercici físic, hores de repòs en el llit, etc. El règim alimentós ha estat portat amb tota exactitud. Les altres dues — malaltes, diabètica i addisoniana, hospitalitzades a la clínica de nutrició de l'Hospital Clínic (professor Bellido) — han estat al llit durant els cinc dies de l'observació.

Observació I

Senyoreta R. S., vint-i-cinc anys, 49 kg. Constitució normal, sense antecedents patològics d'importància. Lleugera atonia gàstrica ben tractada. Puls, 62 per minut. Pressió arterial, 10'5 mm. (Vàquez). Orina de composició normal, sense glucosa, albúmina ni acetona. Metabolisme basal absolutament normal: 0'903 cal. per minut; 1,305 cal. per 34 h.; 37 cal. per metre quadrat i hora. Estandards corresponents a la seva talla, pes, edat i sexe: Krogh, 0'903 cal. per minut; Benedict, 1,299 cal. per 24 h.; Du Bois, 37 cal. per metre quadrat i hora.

Quantitat orina 24 hores	N. total 24 hores	Oxigen abs.		Cl. per 1,000	Coef. oxid. O aus./N	Alimentació
		per 10 cc.	total 24 h.			
cc.	gr.	mgr.	gr.	gr.		
800	15	140	11,2	9'7	0'766	Règim
1,180	14'8	97	11'44	9'9	0'772	Ídem
1,180	14'3	65	9'7	7'1	0'678	Ídem i nateïna
1,200	14	79	9'48	9'2	0'676	Ídem i nateïna
1,200	15	82	9'84	6'3	0'656	Ídem i nateïna
1,250	12'4	129	6'12	4'5	1,300	Sense règim
1,250	11'9	87	10'80	8'6	0'981	Règim i nat.*
1,250	11'9	85	10'6	6'5	0'890	Ídem i nateïna
1,000	12	82	8'2	7'8	0'680	Ídem i nateïna
1,100	11'8	75	8'2	6'5	0'694	Ídem i nateïna
1,200	13,6	70	8'4	6'7	0'617	Ídem i nateïna
1,150	13	75	8'62	9'4	0'663	Ídem i nateïna
1,000	13'8	77	7'7	8'6	0'557	Ídem i nateïna

S'observa una evident baixa de l'oxigen absent total les dues vegades que pren nateïna durant diversos dies.

La indicació «règim» equival a una dieta composta de glúcids, 180; pròtids, 80; lípids, 150; amb un rendiment calòric total de 2,300 cal., igual a 46 per quilo. Observi's el notable augment de l'oxigen absent en un dia de festa assenyalada, amb alimentació excessiva per a la capacitat oxidativa del subjecte.

Observació 2

A. J., vint-i-cinc anys, 71 kg. Constitució normal, sense antecedents patològics. Pols, 64 per minut. Pressió arterial, 12'7 mm. (Vàquez-Lauby). Orina de composició normal, sense albúmina, acetona ni glucosa; crida l'atenció la constància de l'eliminació nitrogenada. Metabolisme basal normal: 1,148 cal. per minut; 1,653 cal. per 24 h.; 39 cal. per metre quadrat i hora. Estandards corresponents a la seva talla, pes, edat i sexe: Krogh, 1,128 cal. per minut; Benedict, 1,657 cal. per 24 h.; Du Bois, 39'5 cal. per metre quadrat i hora.

Quantitat orina 24 hores	N. total 24 hores	Oxigen abs.		Cl. per 1,000	Coef. oxid. O aus./N	Alimentació
		per 10 cc.	total 24 h.			
cc.	gr.	mgr.	gr.	gr.		
1,100	12	110	12'1	8'9	1,000	Règim
1,050	12	118	12'2	6'7	1,016	Ídem
1,900	12	119	10'7	6'9	0'890	Ídem i nateïna
1,000	12	102	10'2	7'4	0'888	Ídem i nateïna

La indicació de «règim» es refereix a una dieta de pròtids, 90; lípids, 120; glúcids, 250, amb un rendiment calòric total de 43 cal. per quilo.

Observació 3

L. F., vint-i-nou anys, 64'6 kg. Sense antecedents patològics d'importància. Pols, 66 pulsacions per minut. Pressió arterial, 12-5'5 mm. (Vàquez-Lauby). Orina de composició normal, sense glucosa, acetona ni albúmina. Metabolisme basal: 1,210 cal. per minut, 1,744 cal. per 24 h. Estandards: Krogh, 1,101 cal. per minut; Benedict, 1,593 cal. per 24 h. Desviació: més 10 per 100; més 10 per 100.

Quantitat orina 24 hores	N. total 24 hores	Oxigen abs.		Cl. per 1,000	Coef. oxid. O aus./N. t.	Alimentació
		per 10 cc.	total 24 h.			
cc.	gr.	mgr.	gr.	g.		
1,125	12	97	10'9	8'8	0'908	—
1,010	12	110	11'1	8'6	0'902	—
920	12'5	120	11'1	8'7	0'920	—
1,075	12	94	10'2	8'4	0'850	Nateïna
1,130	12'2	87	9'7	8'8	0'795	Ídem
1,160	12'1	85	9'8	9'8	0'809	Ídem
750	12	100	7'5	6'5	0'626	Ídem
930	11'2	95	8'8	8'9	0'721	Ídem

Durant tots els dies d'observació, dieta de pròtids, 76; lípids, 100; glúcids, 250, amb un rendiment calòric total de 2,200 cal. (35 cal. per quilo).

Observació 4

Senyora R. R., trenta-quatre anys, 51 kg. Malaltia d'Addison. Pigmentació estesa a tot el cos. Adinàmia. Pressió arterial, 10'5. Pulsacions, 80. Metabolisme basal, 0'516 cal. per minut; 1,318 cal. per 24 h. Estandards : Krogh, 0'945 cal. per minut; Benedict, 1,375 cal. per 24 h. Desviació menys 4 per 100; menys 4 per 100.

Quantitat orina 24 hores	N. total 24 hores	Oxigen abs.		Cl. per 1,000	Coef. oxid. O aus./N. t.	Alimentació
		per 10 cc.	total 24 h.			
cl.	gr.	mgr.	gr.	gr.		
975	11'7	65	6'3	9'3	0'539	—
900	10	70	6'3	9'78	0'630	—
870	10'6	73	6'4	7'5	0'603	—
520	10'3	57	5'2	8'2	0'500	Nateïna
1,410	12	30	4'2	7'6	0'350	Ídem
870	11	37	3'2	10'5	0'290	Ídem
680	11'5	45	3'0	8'9	0'260	Ídem
1,460	11'8	25	3'6	7'2	0'305	Ídem

Sobrealimentació : pròtids, 120; lípids, 100; glúcids, 350; 2,780 cal. (54 cal. per quilo). Iniciat el tractament amb raigs X a petites dosis (estimulants) tres dies abans de començar l'observació; la segona i tercera irradiació tenen lloc en els dies segon i setè de l'observació. Temperatura entre 36'4 i 37'6.

Observació 5

M. T., trenta-nou anys. Anèmia greu, a conseqüència d'hemorràgia causada per traumatisme; 3.214.000 hematies per mil·límetre cúbic. Hemoglobina, 47; (Sahli) 6r kg. Orina de

composició normal. Tractament per repòs, adrenosèrum. Règim: pròtids, 100; lípids, 80; glúcids, 400; 2,270 cal. (44 cal. per hora). Metabolisme basal : 1,382 cal. per minut; 1,988 cal. per 24 h. Estandards : Krogh, 1,025 cal. per minut; Benedict, 1,479 cal. per 24. h. Desviació : més 25 per 100; més 36 per 100.

Quantitat orina 24 hores	N. total 24 hores	Oxigen abs.		Cl. per 1,000	Coef. oxid. O aus./N. t.	Alimentació
		per 10 cc.	total 24 h.			
cc.	gr.	mgr.	gr.	gr.		
1,430	11'5	103	15'7	10'6	1,365	—
1,265	11	100	12'6	9'1	1,145	—
1,400	11'3	133	18'6	7'2	1,654	Nateïna
1,630	11'9	106	17'2	12'2	1,445	Ídem
1,370	11'5	122	16'7	10'1	1,452	Ídem
1,525	11'5	115	16'5	10	1,434	Ídem
1,600	11'3	104	16'6	10	1,443	Ídem

Observi's en aquest cas — l'únic negatiu de la nostra sèrie — la xifra elevadíssima de l'oxigen absent i coeficient d'oxidació, per les dificultats oposades a l'arribada d'oxigen als teixits a causa de l'anèmia. L'aportació de vitamina B no pot resoldre el problema de l'oxidació, si no arriba oxigen suficient.

Observació 6

P. P., deu anys. Sense antecedents patològics d'interès. Ben desenrotllat, 34'5 kg., 76 pulsacions. Orina de composició normal. No s'ha determinat el metabolisme basal.

Quantitat orina 24 hores	N. total 24 hores	Oxigen abs.		Cl. per 1,000	Coef. oxid. O aus. N. t.	Alimentació
		per 10 cc.	total 24 h.			
cc.	gr.	mgr.	gr.	gr.		
1,100	11'2	77	8'4	4'4	0'750	—
1,100	11'5	74	8'1	5'4	0'704	—
1,200	11	71	8'5	5'5	0'770	—
950	11	55'8	5'2	1'2	0'472	—
1,250	11'5	35	6'1	3'4	0'530	—
950	11	53	5'0	5'4	0'454	—
1,000	11'2	51	5'1	4'9	0'455	—

Observació 7

Senyora T. B., seixanta anys. Diabètica lleu, des de fa tres anys. Ingressà a l'hospital fa dotze dies, amb glucosúria abundant (43 gr.), poliúria 3,300 cc.). Albuminúria als trenta-dos anys, durant i en acabar l'embaràs, que després desapareix.

Actualment, bona eliminació renal, amb prova de dilució i concentració normal. Sense albúmina ni acetona en els dies de l'observació. Ha estat obesa (96 kg. fa tres anys). Pes actual, 77'8 kg. Se la manté aglucosúrica amb un règim de pròtids, 50; lípids, 130; glúcids, 60. Durant els dies d'observació, a fi que orinés glucosa, se li ha indicat un règim de : pròtids, 60; lípids, 130; glúcids, 75; amb un rendiment calòric total de 1,700 cal., equivalents a 22 cal. per quilo de pes. Corba de glucèmia, amb 77 gr. de gucosa per la boca : 1'22, 2'12, 1'66, 1'09.

Quantitat orina 24 hores	N. total 24 hores	Oxigen abs. descomptant el que correspon a la glucosa		Cl. per 1,000	Coef. oxid. O aus./N	Alimentació
		per 10 cc.	24 hores			
cc.	gr.	mgr.	gr.	gr.		
1,650	15	83	13'5	6'8	0'900	Règim
1,350	14'9	84	11'3	4'9	0'758	Ídem i nateïna
2,000	15	56	11'2	9'7	0'746	Ídem i nateïna
1,500	14'6	72	10'8	4'3	0'738	Ídem i nateïna

Durant les observacions la malalta orina quantitats de glucosa entre 4 i 7 gr., amb una lleugera tendència a la disminució, probablement per una tendència a la compensació. La corba, però, és gradual i no s'observa el descens bruscat a partir de l'administració de vitamina B, probablement per ésser dos fenòmens distints i en gran part independents.

Bickel havia observat ja en la diabetis un quocient C/N augmentat, inclús descomptant el carbon corresponent a la glucosa (45). Aquest carbon restant augmentat és probablement el que s'oxida millor en el nostre cas, fins i tot sense baixar la glucosúria. Per altra part, Robert Peskin (46) ha observat en la diabetis floridzínica un augment del carbon disoxidat, també descomptant el corresponent a la glucosúria. ¿Serà, també, disminuït per l'administració de vitamina B?

Queda ara una qüestió : la relativa a la importància de la quantitat d'oxigen absent en relació a l'oxigen que ingressa en l'economia. En relació amb això, la importància de la xifra del carbon urinari.

Hem vist en les nostres taules, i les xifres dels autors que s'han ocupat d'aquestes qüestions coincideixen amb

les nostres, que l'oxigen absent total en l'orina en l'home oscil·la entre 5 i 15 gr. El carbon urinari, en casos normals, assoleix valors entre 10 i 15 gr., aproximadament.

Mirem, en canvi, el que representa la respiració. Per terme mitjà, alternant en dia i nit, hores de treball i de repòs, s'absorbeixen en les vint-i-quatre hores, segons Mc. Dowall (47), uns 350 a 400 litres d'oxigen, i s'eliminen de 300 a 350 litres de CO₂ en les vint-i-quatre hores.

El pes d'1 litre d'oxigen és igual a 1'4292 gr.; el d'1 litre de CO₂, a 1'9652, dels quals 0'531 corresponen al carbon.

Multiplicant aquests pesos per les quantitats absorbides o eliminades per via respiratòria, es veurà que la quantitat d'oxigen absorbida en vint-i-quatre hores és igual a uns 500 a 570 gr. d'oxigen, i el carbon eliminat, 312 a 365 gr.

De manera que l'oxigen que manca per una absoluta oxidació de les matèries representa menys d'un 2 per 100 de l'oxigen absorbit, i el carbon que surt disoxidat per l'orina, un 3 per 100 aproximadament de la totalitat del carbon eliminat. La qual cosa significa, en conjunt, que el metabolisme humà arriba molt lluny en la descomposició material i, com afirma A. V. Hill (48), és la màquina que rendeix un major aprofitament energètic.

Institut de Fisiologia. Facultat de Medicina. Barcelona.

BIBLIOGRAFIA

1. *Randoin, L., i Simonnet, H., La question des vitamines.*
Les Presses Univ. de France, 1927.
2. *Walshe, Quart. Journ. Med., XI, 320; 1920.*
3. *Abderhalden, E., Pflüger's Arch., CLXXXVII, 80; 1921.*
4. *Abderhalden, E., Pflüger's Arch., CXCII, 163; 1921.*
5. *Okada, Japan Med. Wor., III, 102; 1925. Cita de Bickel (21).*
6. *Ramoino, Archiv. Ital. Biol., LXV, 1; 1916.*
7. *Groebels, Zeitschr. Biol. Chem., CXXII, 104; 1922.*
8. *Groebels, Zeitschr. Biol. Chem., CXXXVII, 14; 1924.*
9. *Asada, Bioch. Zeitschr., CXLIII, 387; 1923.*
10. *Bickel, A., Klinisch. Wochens., I, 110; 1922.*
11. *Bickel, A., Deutsche Med. Wochens., XXIX, 965; 1922.*
12. *Bickel, A., Biochem. Zeitschr., CXLVI, 473; 1924.*
13. *Bickel, A., Biochem. Zeitschr., CLXVI, 251; 1925.*
14. *Anderson i Kulp, Journ. Biol. Chem., LII, 69; 1922.*
15. *Bickel i Collazo, Deutsch. Med. Wochens., XLV, 1408; 1923.*
16. *Farmer i Radenbaugh, Amer. Journ. of Physiol., LXXV, 27; 1925.*
17. *Shinoda, Bioch. Zeitschr., CXLIX, 1; 1924.*
18. *Ahlgren, G., Skandin. Archiv. f. Physiol., XLIV, 186; 1923.*
19. *Mc Collum, Lectures on Nutrition (Mayo Foundation).*
Saunders and Co. Filadèlfia, 1924.
20. *Duchter, Journ. Biol. Chem., XXXVI, 73; 1918.*
21. *Bickel, A., i Kauffmann-Cosla, Virchow's Arch., CCLIX, 186; 1926.*
22. *Bouchard, Maladies par ralentissement de la nutrition.*
Ed. F. Savy. París, 1882.
23. *Pi Suñer, A., Libro-homenaje a Marañón. Madrid, 1929.*
24. *Pi Suñer, A., Les distròfies per retard. Mon. mèdiques, 1928.*
25. *Karr, Journ. Biol. Chem., XLIV, 255 i 277; 1920.*
26. *Karr, Proceed. Soc. Exp. Biol. Med., XVII, 84; 1920.*
27. *Green, South. African Journ. Sc., XIV, 843; 1928. Cita de Randoin i Simonnet (1).*
28. *Dennstedt, Micrométodos (Pincussen). Segona edició espanyola. Barcelona, 1929.*
29. *Pi Suñer, A., Gaceta Médica Catalana, 1906.*
30. *Müller, Bioch. Zeitschr., CLXXXVI, 451; 1927.*
31. *Pregl, Pflüger's Arch., LXXV, 87; 1899.*
32. *Zuntz i Loewy, Lehrb. der Physiol. des Menschen, 690.*
Verlag, Vogel, 1920.
33. *Straub, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmak., XXVIII, 139; 1897.*

34. *Collazo*, Deutsch Med. Wochens., LI, 1614; 1925.
35. *Pi Suñer*, A., Inst. de Fisiol. Barcelona, II, 241; 1928.
36. *Pi Suñer i Puche*, Soc. de Biol. Barcelona, 1929.
37. *Pi-Suñer Bayo*, Resumen-avance para el XII Congreso Int. de Fisiología. Boston, 1929.
38. *Puche*, J., Ídem íd. íd.
39. *Kauffmann-Cosla*, Bioch. Zeitschr., CLXXVI; 1926.
40. *Schimizu*, Bioch. Zeitschr., CLIII, 424; 1924.
41. *Strebiger*, Zeitschr. anal. Chem., LVIII, 97; 1919.
42. *Bickel*, A., Bioch. Zeitschr., CXCIX, 195; 1928.
43. *Goldbloom*, A. A., Bioch. Zeitschr., CXCIX, 202; 1928.
44. *Goldschmidt*, E., Bioch. Zeitschr., CXCIX, 207; 1928.
45. *Bickel*, A., i *Kauffmann-Cosla*, Klin. Wochens., n.º 28, 1924.
46. *Robert Peskin*, A., Bioch. Zeitschr., CCII, 5; 1928.
47. *Mc Dowall*, Clinical Physiology. Appleton and Co. New York, 1927.
48. *Hill*, A. V., Muscular activity. Williams and Wilkins. Baltimore, 1926.