

ACCIÓ DE LA VITAMINA *B* I DE LA INSULINA
EN LES ALTERACIONS DEL METABOLISME
DELS HIDRATS DE CARBON
EN L'AVITAMINOSI *B*

per

J. A. COLLAZO

C. PI-SUÑER I BAYO

Un de nosaltres (1) ha demostrat, en una llarga sèrie d'investigacions (1922-1930), que en l'avitaminosi *B*, en ocells i mamífers, amb simple règim d'arròs o dieta mixta, existeix un conjunt d'alteracions del metabolisme dels hidrats de carbon, que predominen sobre el quadre de la malaltia experimental, i els caràcters del qual són diferents dels de la diabetis. Aquestes alteracions, semblants a la diabetis, han estat ja de temps mencionades també per A. Pi-Suñer (2). Malgrat això, la teoria de l'origen de l'avitaminosi *B* en alteracions primitives i específiques del metabolisme dels hidrats de carbon és encara una hipòtesi, per bé que amb nombrosos fets al seu favor. Mentre no es disposi d'un preparat pur de vitamina *B*, mancaran les experiències directes i definitives, de manera que no es descarta la possibilitat d'altres causes. Així i tot, els estudis ja força nombrosos sobre el metabolisme del sucre representen la contribució més important al coneixement de la patogènia de l'avitaminosi *B* i del seu mecanisme d'acció. Les dificultats

per a deduir conclusions fermes resideixen en el progrés constant d'aquests estudis, que obliga cada dia a corregir les interpretacions esquemàtiques o aventurades.

En la primera etapa d'aquests assaigs s'ha estudiat l'avitaminosi *B* en animals sotmesos a una dieta despullada de tal vitamina, i en els quals s'han descrit les manifestacions clíniques, s'han investigat el metabolisme, la duració de la vida, etc.

Sintetitzant els resultats ja adquirits, podem dividir en sis grups les investigacions realitzades sobre el metabolisme dels hidrats de carbon en l'avitaminosi *B*.

1.^o Assaigs de dietes d'Ejkmann (3), Braddon i Cooper (4), Funk (5), Collazo (6), Tasawa (7), Tcherkes (8), Randoïn i Simonet (9), Funk i Collazo (10), etc., demostren que els accidents crònics aguts i la mort per beri-beri són més greus i precoços, augmentant la dosi d'hidrats de carbon de la ració; i que a dosis majors d'hidrat de carbon correspon un augment paral·lel de la necessitat de vitamina *B*.

2.^o Els assaigs bioquímics de Collazo (11), Sinhoda (12), Collazo i Rubino (13), Abderhalden (14), Paladín (15), Alpern (16), Kogan (17), Koudroesewska (18), Chahovitch (19), Randoïn i Simonet (20), Bickel (21), Simhizu (22), Kauffmann-Cosla (23), Rosenwald (24), Collazo i Munilla (25), Fisher (26), Borghi (27), Pugliesse (28), Usuelli (29), Eggleton i Gros (30), Negri (31), Sure (32), Stucky (33), Kon (34), Pelczar (35), J. Pi-Suñer Bayo i M. Farran (36), etc., etc., indiquen en l'avitaminosi *B* una disminució de la tolerància per als hidrats de carbon, hiperglucèmia precedida d'una fase d'hipoglucèmia, glucosúria provocada, empobriment del glucogen hepàtic, muscular i cardíac, augment de la *carbonúria disoxidativa* i de la *lactacidúria*, etc.; diferenciant-se de la diabetis per la falta de *glucosuria espontània* i d'*acidosi*.

3.^r Els assaigs farmacològics de Collazo i Ghose (37), Collazo (38), Alpern i Collazo (39), Koudroesewska (18), Kauffmann (40), Onohara (41), Rosenwald (24), Collazo, Varela, Rubino i Munilla (25), etc., etc., amb substàncies que modifiquen el metabolisme dels sucres, tals com la tiroïdina, adrenalina, hipofisina, insulina, revelen una disminució, en l'avitaminosi, de la sensibilitat envers ells; quant a l'hormona pancreàtica, millora alguns símptomes, sense curar la malaltia.

4.^t Assaigs comparatius amb l'acció d'altres vitamines, de Collazo (42), Kon (43), Roche (44), etc., revelen que les alteracions de l'avitaminosi *B* no sofreixen cap modificació agregant a la dieta quantitats apreciables d'altres vitamines; essent, al contrari, sempre positiva la influència d'aliments o preparats rics en vitamina *B*, que obra d'una manera selectiva sobre les esmentades alteracions dels sucres.

5.^e Els assaigs de Collazo i Sosa (45) sobre l'acció de la vitamina *B* en les alteracions de la glucogènia en el metabolisme dels coloms en avitaminosi constaten el rol glucogènic de l'autolitzat de llevat, així com el seu efecte més general, regulant el metabolisme dels hidrats de carbon, acompanyat de la curació completa dels animals.

6.^e Els assaigs d'interpretacions clíniques, favorables a l'existència de l'avitaminosi *B*, infantil, per defectes d'alimentació en la primera infància (pobresa en vitamina *B* : llets condensades, farines, preparats diversos), causant de les distròfies gastrointestinals, el mecanisme patogènic de les quals radica en una alteració profunda del metabolisme hidrocarbonat, amb hiperglucèmia, hipoglucogènia, aflaquiment, diarrea verda, acidosi i mort convulsiva, amb gran descens de la temperatura i evidents signes d'intoxicació hepàtica o hipoglucogènia.

Aquest grup de fets biològics que parlen a favor d'una alteració greu de la nutrició, amb predomini dels sucres, ha estat estudiat per nombrosos autors; però en la majoria dels casos consisteix en observacions patològiques negatives, és a dir, en animals desproveïts de vitamina *B*. El nombre dels treballs fisiològics destinats a estudiar l'efecte de la vitamina *B*, en forma del seu preparat més pur, sobre la malaltia d'utilització del sucre, que acompanya a l'avitaminosi, encara és relativament escàs: Collazo i Sosa (45), Pugliese (46) i Negri (31).

El present treball té per objecte insistir de nou sobre l'acció fisiològica de la vitamina *B* sobre el metabolisme patològic dels sucres, utilitzant diversos preparats, i comparant-la amb la de la insulina en iguals condicions.

En general, hem tractat de completar els nostres coneixements prenent com a punt de partida les investigacions ja realitzades; i en comentar els resultats intentarem, en particular, de dilucidar la influència i la naturalesa de l'efecte de la vitamina *B* i de la insulina sobre el complicat quadre patològic del beri-beri experimental.

EXPERIÈNCIES

S'empraren, en total, trenta-tres coloms joves, de sis a vuit mesos i de 260 a 300 grams de pes, procedents de diferent criador, dividits en sis lots i alimentats amb arròs polit i aigua addicionada de mescla de sals, essent sacrificats entre els vint i trenta dies d'avitaminosi, en el període greu de la malaltia i presentant els símptomes clínics principals : pèrdua de pes, diarrea verda, falta de gana, desequilibri en la marxa, insuficiència funcional per a volar, etc.

En la sang, recollida per sagnia de les caròtides, en

els músculs pectorals i en el fetge, efectuàrem, en les distintes condicions experimentals, les següents anàlisis:

I. *Glucèmia, lactacidèmia i glutacionèmia.*

II. *Glucogen, àcid làctic i àcid fosfòric en el fetge.*

III. *Glucogen, àcid làctic i àcid fosfòric en el múscul.*

Els sis lots de coloms foren distribuïts de la manera següent:

1. Lot de control, de coloms normals, alimentats amb grans sencers d'arròs.

2. Avitaminosi *B* en coloms alimentats amb arròs polit.

3. Avitaminosi *B*, tractant els animals, durant cinc dies seguits abans de la seva mort, amb 1 cc. d'autolitzat de llevat de cervesa.

4. Avitaminosi *B*, tractant els animals, durant cinc dies seguits abans de la seva mort, amb 2 unitats d'insulina.

5. Avitaminosi *B*, tractant els animals, durant cinc dies seguits abans de la seva mort, amb 50 mgr. d'un preparat de llevat, obtingut per precipitació amb deu volums d'acetona d'una solució de l'autolitzat en alcohol clorhídric.

6. Avitaminosi *B*, tractant els animals, durant cinc dies seguits abans de llur mort, amb 50 mgr. d'un preparat de llevat, obtingut per precipitació de l'autolitzat amb tres volums d'alcohol fort.

A més a més, referim tres experiències en coloms avitaminosos, tractats amb insulina per boca, efectuades amb el fi d'investigar l'acció vitamínica *B* de la dita hormona, i en els quals verificàrem les anàlisis com en els altres.

Els mètodes emprats per les anàlisis foren:

a) Sucre de la sang i el format per la hidrolisi del glucogen, pel micromètode de Bang, el de Hagedorn-Jensen i pels semimicromètodes de Mac Lean i Folin.

b) Acid làctic de la sang, pel mètode de Collazo i Supniewski (47), molt semblant al de Hirsch-Kauffmann (48), descrit posteriorment.

c) L'àcid làctic del fetge i dels músculs pel mètode de Fürth i Charnas, precipitant prèviament les substàncies reductores pel sulfat de coure, en medi alcalinitzat amb lletada de calç.

d) L'àcid fosfòric del fetge i dels músculs pel mètode d'Emden, Myrbach-Roche, titulant el fòsfor per alcalimetria i fent la desalbuminació per l'àcid tricloracètic, en solució al 20 per 100, amb àcid clorhídric a l'1 per 100.

e) El glucogen pel mètode de Pflüger.

f) El glutatíon de la sang, pel de Tunnicyfe, amb solució $\frac{N}{200}$ de iode.

Una part de les anàlisis han estat efectuades pels mètodes apropiats per a treballar amb petites quantitats d'òrgan (300-500 mgr.) pesats en la balança de torsió de Bang, que utilitzem, també, en la determinació de l'extracte sec.

CONSIDERACIONS SOBRE ELS RESULTATS

La consideració dels resultats, resumits en el protocol de les experiències, ens permet de destacar clarament l'efecte de la vitamina B de l'autolitzat de llevat de cervesa (lot 3.¹) sobre els processos químics del metabolisme, profundament alterats en l'avitaminosi B.¹

1. L'autolitzat de llevat de cervesa o el seu concentrat, utilitzat per nosaltres, conté totes les vitamines hidrosolubles del grup B. Efectivament, quan parlem de vitamina B, ens referim al complex vitamínic, ja que és encara impossible d'individualitzar cada una de les substàncies en ell contingudes, per les seves propietats biològiques sobre el metabolisme. Ha estat comprovada repetidament, per di-

L'efecte, clar, de la insulina sobre la glucèmia, la glucogènesi, i indirectament sobre l'àcid làctic dels òrgans no és tan intens com el de l'autolitzat total. Respecte l'efecte curatiu, la insulina fou incapaç de modificar l'estat general i la greu evolució de la malaltia. L'examen del contingut en vitamina *B* dels preparats d'insulina de les firmes Meister Lucius i Lilly, subministrats per via oral a dosis extraordinàries (40-120 unitats), ens revelà, en les condicions de la nostra experiència, una ineficàcia quasi completa, o almenys sense acció sobre el pes dels

versos autors, l'existència, en aquest grup, d'un o diversos principis biològics d'acció evident sobre la utilització dels hidrats de carbon alimentaris, consistint actualment el problema en la caracterització i aïllament del tal agent específic.

Segons recents publicacions de Seidell, Sherman, Levene, Mc. Callum, Steenboock i Dutscher (49), les vitamines contingudes en el grup *B* poden classificar-se de la següent manera:

a) Factor «bios», termostable, resistent a les distintes accions químiques : oxidació, hidrogenació, acidificació i de vegades alcalinització, necessari per al creixement dels microorganismes (i potser de totes les cèl·lules).

b) Vitamina *B*, termolàbil i alcalinolàbil, antineurítica o anti-beribèrica, el rol de la qual en el metabolisme és poc conegut.

c) Vitamina *G* (B_2 o P. P.), termoestable i tan resistent com el bios (potser idèntica), antipel·lagrosa.

d) Vitamina d'utilització dels hidrats de carbon, d'entreteniment nutritiu, termostable i alcalinolàbil, amb algunes semblances a la vitamina *G* o antipel·lagrosa (Randoïn i Lecocq) (50).

Aquestes classificacions biològiques només tenen un valor provisorori, mentre no s'arribi a una suficient separació química que ens permeti de referir a un element determinat les propietats biològiques, observades per administració als animals. Cal tenir en compte, també, que, segurament, ha contribuït a la dificultat en la caracterització de les vitamines l'ús de distint *test* per als diversos factors. Així veiem que s'utilitza el colom per a la determinació del factor *B* antineurític i del d'utilització dels sucres; el gos per al *G*, antipel·lagros; de vegades, la rata per a l'antineurític i d'entreteniment nutritiu; l'augment de pes del llevat de cervesa per al factor «bios», etc. Si afegim encara la presència d'insulinoides, cimases, catalitzadors, etc., en els productes del llevat utilitzats pels investigadors, apreciarem en tota la seva complexitat el problema de l'isolament dels diversos efectes biològics dels esmentats productes.

Volem fer constar, però, l'existència d'un gran nombre d'investigacions favorables a la presència, en el complex *B*, d'un factor d'utilització o bio-regulador del metabolisme dels hidrats de carbon.

animals ni sobre l'atac de beri-beri (tres experiències). L'anàlisi del quimisme hidrocarbonat ens revelà, no sense sorpresa, una acció neta de la insulina *per os* sobre la glucèmia en el sentit del descens; el seu efecte sobre la glucogènia hepàtica en l'avitaminosi és, també, franc, encara que molt inferior al que produeix per via parenteral. Per tant, ens inclinem a admetre que els preparats d'insulina que utilitzem manquen de vitamina *B*, almenys en quantitat considerable.

Ara bé : és la relació inversa igualment exacta?

L'autolitzat de llevat està desproveït d'insulina o d'insulinoides?

La resposta és més aviat negativa, ja que nombrosos autors han extret del llevat la glucoquinina (Collip (51), Winter i Smith (52), Funck i Corbitt (53), etc.), d'efecte anàleg a la insulina. Una separació entre vitamina *B* i insulina o substàncies anàlogues és difícil d'aconseguir amb certesa. Els resultats dels grups 5.^e i 6.^e han estat assolits amb dos preparats o fraccions d'autolitzat de llevat de cervesa, amb la idea d'isolar els seus efectes sobre el metabolisme i deduir, en conseqüència, l'existència d'una substància activa. Des d'aquest punt de vista, l'èxit no fou decisiu.

a) El precipitat alcohol·lic de l'autolitzat, que no és molt voluminós, un cop recollit i dessecat, s'ha mostrat amb un feble poder vitamínic *B*, a la dosi utilitzada per nosaltres, i encara que la seva acció sobre el glucogen i les combinacions orgàniques del fòsfor (*B-A*), apareix ben visible, sols ens permet d'avançar, per ara, un indicatiu d'exclusió de vitamina *B* en la seva composició. La precipitació alcohol·lica no és prou segura, ja que el precipitat arrossega vitamina *B*. Per ella s'obté, en primer lloc, el complement o cocimasa de Meyerhof, l'acció específica del qual sobre la formació d'àcid làctic a des-

pesa d'exofosfat havia estat posada en clar amb gran exactitud per l'esmentat investigador i els seus col·laboradors en els processos anaerobis del quimisme del múscul, i per Neuberger (54) i els seus (entre ells un de nosaltres, C. Pi-Suñer Bayo) (55) en el llevat i les fulles dels vegetals superiors. Amb tot, una intervenció del *coferment* en l'*esterificació* dels fosfats en la fase aeròbia sembla admesa en els darrers treballs de Meyerhof (56) i Lohmann (57), continuant-se després les etapes successives del desdoblament, sense la necessària intervenció del coferment. Àdhuc en els animals vius i introduïts per via gàstrica posseeix el coferment alguna acció biològica?

La qüestió és nova i no ha estat tractada fins ara, i aquests resultats poden servir-nos de punt de partida per a ulteriors investigacions amb el coferment o coenzima, purificat pel mètode d'Euler i Myrbäck (58). És sabut que aquests autors han arribat en llurs investigacions a identificar gairebé la cocimasa amb un nucleòtid semblant a l'àcid adenilfosfòric o que potser sigui el mateix àcid descobert recentment per Embden i Zimmermann, i que també es presenta en el llevat i en el múscul.

b) Tractant l'autolitzat amb una solució alcohòlica al 75 per 100 i àcid clorhídric a l'1'5 per 100, es precipita una porció poc voluminosa; decantant i tractant per deu volums d'acetona, s'obté un precipitat abundant que, rentat amb alcohol absolut i èter, i dessecat en el buit, posseeix una gran activitat vitamínica B (tercer mètode de Collazo i Goslino) (59). A la dosi de 50 mgr. per dia aquest preparat té una acció evident i ràpida sobre el quadre general de l'avitaminosi B. És actiu contra l'atac, i les anàlisis demostren la seva eficàcia sobre la glucèmia i el seu estímul notable en la formació del glucogen del fetge i del múscul en el colom avitaminós. La seva acció sobre l'àcid làctic de la sang i la recuperació de les

forces musculars que sobrevé a les poques hores (2-10) d'introduït per sonda en el pap d'un colom en atac convulsiu o en estat caquètic, així com l'estímul poderós sobre la gana (ingestió espontània de 25-50 gr. d'arròs) en l'avitaminosi, ens permeten de concloure que aquest preparat conté la vitamina *B* en molt elevada concentració.

Com sigui que les solucions d'aquest precipitat donen les reaccions del clor, podria ésser considerat com un clorhidrat de vitamina *B*, per bé que molt impur encara, per la presència d'altres substàncies proteiques. Hem d'insistir sobre l'efecte que té en la glucogènesi disminuïda i en la hiperglucèmia que acompanya a l'evolució de l'avitaminosi, paral·lelament al seu efecte vitamínic. ¿Ens autoritza aquesta associació a reconèixer en el preparat una identitat dels efectes sobre el metabolisme dels hidrats de carbon i vitamínic?

L'existència probable d'insulinoïdes en aquest clorhidrat complex ens impedeix de respondre afirmativament aquesta pregunta. Hi ha punts de referència favorables a una identitat entre els dos efectes, per a concloure en una acció de la vitamina *B* sobre el metabolisme dels hidrats de carbon; però les proves són només, per ara, indirectes o provisòries, donat que no hem realitzat les dites experiències amb preparats completament purs de vitamina *B*. Les investigacions sobre el metabolisme hidrocarbonat en els animals amb dietes *sense* vitamina *B*, en els quals el pàncreas no presenta alteracions anatòmiques que expliquin els greus desordres anotats en la introducció d'aquest treball, constitueixen una forta presumpció a favor de l'especificitat vitamínica d'aquestes alteracions.

D'altra banda, la ineficàcia gairebé completa de la insulina subministrada per via oral o parenteral sobre els síndromes cardinals de l'avitaminosi, conservant, però,

una acció evident sobre el metabolisme dels hidrats de carbon (glucèmia, glucogènia, etc.), reforça l'opinió que la vitamina B, que actua en forma encara més enèrgica que la insulina sobre el quimisme hidrocarbonat en l'avitaminosi i que cura ràpidament i radicalment els accidents del beri-beri experimental, posseeix identificades ambdues funcions, o que, d'altra manera, és un agent d'acció específica sobre el metabolisme dels sucres.

RESUM DEL PROTOCOL DE LES EXPERIÈNCIES

TAULA I

Cada xifra expressa el valor mitjà de les anàlisis realitzades en cinc coloms, corresponents a cada un dels sis lots.

Lot de control, coloms normals:

Organ	Glucogen mg. per 100	Acid làctic mg. per 100			Acid fosfòric mg. per 100		
		A	B	B-A	A	B	B-A
Múscul...	361	301	520	219	309	412	103
Fetge....	3,039	90	136	46	138	171	13

Lot de coloms en avitaminosi B:

Múscul...	140	360	398	38	505	650	145
Fetge....	129	136	200	64	100	136	36

Lot de coloms en avitaminosi amb autolitzat total de llevat de cervesa (vitamina B):

Múscul...	721	307	451	144	371	503	132
Fetge....	6,423	143	261	118	130	249	119

Lot de coloms en avitaminosi amb insulina per injeccions:

Múscul...	233	275	395	120	360	457	97
Fetge....	3,939	97	230	133	105	130	25

Lot de coloms en avitaminosi amb fracció precipitada per acetona (clorhidrat de vitamina B):

Múscul...	469	212	318	106	395	433	38
Fetge....	3,239	185	305	120	123	145	22

Lot de coloms en avitaminosi amb fracció precipitada per alcohol fort (coferment?):

Organ	Glucogen mg. per 100	Acid làctic mg. per 100			Acid fosfòric mg. per 100		
		A	B	B-A	A	B	B-A
Múscul...	229	215	361	146	391	469	78
Fetge....	1,390	100	131	31	144	197	33

Lot de tres coloms en avitaminosi amb insulina *per os*:

Múscul...	201	250	397	147	355	465	110
Fetge....	2,241	100	297	197	103	136	33

A. — Significa el valor de l'àcid làctic i àcid fosfòric preformat, determinat immediatament de sacrificat l'animal.

B. — Significa el valor de l'àcid làctic i de l'àcid fosfòric desdoblant, després de romandre dues hores a l'estufa a 40° en medi alcalí, més el preformat.

B-A. — Significa el valor de l'àcid làctic i de l'àcid fosfòric deduït per diferència entre els dos valors anteriors i expressa la fracció combinada posada en llibertat per hidròlisi.

TAULA II

Cada xifra expressa el valor mitjà de les anàlisis realitzades en la sang de 3-5 coloms corresponents a cada un dels set lots.

	Glucèmia mg. per 100	Lactacidèmia mg. per 100	Glutation mg. per 100
Lot de control, coloms normals....	197	26'7	71
Lot de coloms en avitaminosi....	270	50'1	58'3
Lot de coloms en avitaminosi, amb autolitzat de llevat de cervesa..	208	30'5	75'1
Lot de coloms en avitaminosi, amb insulina en injeccions.....	98	47	70'5
Lot de coloms en avitaminosi, amb fracció precipitada amb acetona (clorhidrat de vitamina B?)....	210	23'5	79'7
Lot de coloms en avitaminosi, amb fracció precipitada per alcohol fort (coferment?).....	249	19'8	56'7
Coloms en avitaminosi, amb insulina per boca.....	212	32	56

Ocupant-nos ara, concretament, de cada un dels resultats corresponents als diferents lots, i fent les com-

paracions necessàries per a estudiar els efectes segons les diverses condicions experimentals, podem sintetitzar de la manera següent.

En considerar els resultats, s'observa immediatament, i d'una manera general, una diferència (ja posada de manifest en treballs anteriors) entre el metabolisme dels coloms normals i el dels avitaminosos. Per altra banda, ressaltava en forma evident l'efecte de la vitamina *B* (autolitzat de llevat) sobre la recuperació de les funcions biològiques del metabolisme dels sucres, alterades en l'avitaminosi *B*. En algunes etapes d'aquest metabolisme, la insulina exerceix un paper semblant al de la vitamina *B*, àdhuc si se subministra *per os*, i malgrat haver-se comprovat repetides vegades la seva ineficàcia en el guariment de la malaltia experimental. Com veurem de seguida, la diferència és, també, molt clara en la quantitat d'àcid làctic de la sang, format en el metabolisme intermediari. Vegem el que ens indica l'estudi de cada un dels valors obtinguts:

1.^o *Glucogen*. — El glucogen disminueix en l'avitaminosi, i més en el fetge que no pas en els músculs, com ja ho havien demostrat Funk (60), Collazo (61), Ogata (62), Abderhalden (14), Sinhoda (12), Randoïn (63), etc. La funció glucogènica és estimulada (assolint xifres extraordinàries) per la insulina en injeccions i aport simultani de glucosa *per os* (Bickel i Collazo (38), Koudroezewska (18) i Fisher (26). Igual efecte, però curant ràpidament els símptomes de la malaltia, s'aconsegueix amb la vitamina *B* de l'autolitzat total, mentre que l'alcohòlic és molt feble. La insulina *per os* actua, també, en la recuperació de la glucogènesi dels coloms avitaminosos.

2.^o *Àcid làctic*. — En l'avitaminosi s'observen certes diferències en els valors mitjans de l'àcid làctic preformat, diferències encara majors en el combinat o esterificat,

desdoblant després de romandre a l'estufa a 40° en medi alcalí. S'observa una major quantitat d'àcid làctic preformat i menor del combinat en l'avitaminosi que en l'estat normal, essent encara major la diferència en el lot tractat amb vitamina B. El múscul i el fetge es comporten en l'avitaminosi com en els animals sotmesos a un fort treball muscular i despulats de glucogen; hi ha un excés d'àcid làctic, evident sobretot en la sang: 50'1 mg: per 100 (26'7 mg. per 100 normal). L'estudi de l'àcid làctic en la sang i en l'orina ha estat verificat ja fa anys per Collazo (6) i Rosenwald (24), amb els mateixos resultats: retenció de l'àcid làctic en els medis interns, i augment de l'eliminació renal. Recentment han efectuat observacions semblants Pugliese (64) i Negri (31), enriquint l'estudi amb el dosatge de l'àcid làctic en els músculs i conclouent que en l'avitaminosi B del colom existeix una evident insuficiència de la funció de resíntesi o polimerització a hidrats de carbon més complexos (poliïses, glucogen), a partir del producte de despesa del metabolisme anaerobi del sucre, àcid làctic; funció que es realitza en l'organisme amb despesa d'energia i consum d'oxigen, segons l'esquema de Meyerhof i Hill. Una disminució del consum d'oxigen respiratori dels teixits i del quocient respiratori ha estat observada per nombrosos autors en l'avitaminosi (Ramoino (65), Abderhalden (66), Hess (67), Magne i Simonet (68), etc.); d'altres no observen variacions tan clares i no admeten diferències més enllà dels límits d'error, amb els valors dels animals en dejú o en inanició (Anderson i Kulp (69), Roche (70), etc.).

Relacionat amb aquesta qüestió, és interessant de recordar les investigacions d'Abderhalden (71), Randoïn i Fabre (72), Collazo, Varela i Rubino (73), Collazo i Munilla (74), Varela, Duomarco i Munilla (75), J. Pi-Suñer Bayo (76), etc., sobre el poder d'òxido-reducció

dels teixits, fetge, múscul, sang, etc., en l'avitaminosi *B* comparat amb l'estat normal i després del tractament amb autolitzat de llevat o amb insulina; els resultats dels quals concorden a constatar, en l'avitaminosi del colom, un descens gran dels valors del glutatión en el fetge, múscul i sang; així com un augment, que arriba fins a sobrepassar els valors normals a conseqüència del tractament amb vitamina *B* (autolitzat de llevat) o amb insulina, encara que en menor grau. Tenint en compte el rol del glutatión en els fenòmens d'òxido-reducció del múscul (Hopkins (77), Meyerhof (78), etc.), pot admetre's que la seva pobresa en l'organisme avitaminós va causalment unida, almenys en part, a les alteracions disoxidatives o insuficients redoxidacions dels principis immediats del metabolisme; originant una retenció de l'àcid làctic produït pel predomini de l'anaerobiosi. La falta de desdoblament oxidatiu molecular intermediari repercuteix en l'augment del carbon total eliminat o carbonúria, descrita per Bickel i els seus col·laboradors en l'avitaminosi i altres estats hipoxidatius.

A favor d'un defecte de resíntesi de l'àcid làctic en el metabolisme intermediari durant l'avitaminosi, hem de recordar les experiències realitzades ja fa uns anys per Collazo i Morelli (79), sotmetent a «training», durant vint minuts, un gos en avitaminosi *B* i estudiant l'evolució de la corba de la lactacidèmia. Aquests autors observaren que en el mateix animal, i sotmès a idèntic esforç muscular, es presentava un gran augment en la lactacidèmia abans i després de l'exercici en l'avitaminosi, arribant de vegades a xifres quasi dobles i trigant molt la tornada al valor normal; és a dir, un retard en la resíntesi major de quaranta-cinc minuts, en comparació amb el període normal.

L'existència d'elevades quantitats de glutatión re-

duït (R-SH) en l'autolitzat de llevat de cervesa és un fet que planteja la qüestió de si l'efecte favorable constatat amb el llevat en l'avitaminosi és degut a la vitamina *B*, a l'existència del glutatíon o a l'acció combinada d'ambdós factors.

En resum, en l'avitaminosi *B* del colom hi ha una acumulació d'àcid làctic en l'organisme, acompanyada d'un descens considerable del glucogen i del glutatíon reduït; la vitamina *B*, i en menor grau la insulina, produeixen un augment de la síntesi oxidativa del glucogen, una elevació del glutatíon i de la resíntesi de l'àcid làctic. No podem encara isolar l'efecte mencionat per la coexistència de diverses substàncies, inclòs el glutatíon, en el complex de l'autolitzat del llevat de cervesa.

3.^r *Àcid fosfòric.* — L'àcid fosfòric preformat i combinat o esterificat del múscul ofereix en l'avitaminosi (lot 2.ⁿ) un gran augment en comparació amb el dels coloms normals. Les tres fraccions (*B-A*), (*B*) i (*A*) descendeixen, assolint xifres molt menors sota l'acció de la vitamina *B* (lot 3.^r); efecte encara més pronunciat amb les altres fraccions de l'autolitzat, i àdhuc amb la insulina. El fòsfor preformat del fetge és major en els animals tractats amb autolitzat o les seves fraccions, o insulina, que en l'avitaminosi, aproximant-se als valors normals. En l'avitaminosi concorden els nostres resultats, en línies generals, amb els de Pugliese, constatant una retenció de fòsfor en els músculs dels animals avitaminosos. Ja Lawaczeck (80) havia observat en els músculs pectorals del colom malalt de beri-beri un augment considerable de fòsfor, calculat en substància seca, en comparació amb el dels animals normals o en inanició.

També relacionats amb tot l'anterior hem d'esmentar els treballs de Collazo (81), Adachi (82), Asada (83), Morinaka (84), Yoshiue (85), Hirabayashi (86), etc.,

sobre l'eliminació del fòsfor per l'orina en l'avitaminosi *B*, observant un augment uniforme. En la sang ha descrit Maria Di Giorgio (87) un augment progressiu del fòsfor inorgànic, paral·lel als fenòmens espàstics i acompanyat d'hipocalcèmia. Aquests resultats poden ésser interpretats, ja considerant-los en relació amb les alteracions del metabolisme hidrocarbonat, ja com a manifestacions del metabolisme mineral en si.

En el primer cas, cal tenir en compte la total transformació dels nostres coneixements sobre el quimisme de les combinacions fosforades del múscul, experimentada en aquests darrers anys, gràcies als treballs de Meyerhof (56), Lohmann (57), Fiske i Subrarow (88), Eggleton (89), Embden i Zimmermann (90), Nachmannson (91), Lunds-gaard (92), etc. En efecte, l'àcid fosfòric preformat és tan solament en molt petita part inorgànic, procedint en la major d'una combinació orgànica inestable, amb creatina en els vertebrats i amb arginina en els invertebrats, denominada fosfagèn. L'àcid fosfòric obtingut per hidròlisi en l'estufa i en medi alcalí pren origen en les seves quatre cinquenes parts en el desdoblament del complex adenilpirofosfòric, en àcid ortofosfòric, i només en fracció molt reduïda, a despesa d'alguns dels àcids exosafosfòrics. Aquests fets ocupen el lloc que anteriorment corresponia a l'esquema lactacidogen d'Emden. Quant al metabolisme mineral en si, és molt probable que sigui impossible de considerar isoladament de les seves composicions orgàniques, tals com èsters exofosfòrics, fosfàgens, nucleòtids, fosfàtids, etc., la intervenció dels quals en els processos intermediaris és decisiva àdhuc en aquelles funcions com la d'ossificació, considerades, abans d'ara, com purament minerals (Robinson) (93).

De tot l'anterior es dedueix que, donada la renovació dels coneixements i el perfeccionament de les tècni-

ques, no podem avançar, pel que fa al metabolisme del fòsfor, més que conclusions generals; observant un augment de l'àcid fosfòric muscular, potser independent en si i aparentment no unit, d'una manera necessària, a les alteracions del metabolisme hidrocarbonat.

4.^t *Glucèmia*. — Els nostres resultats confirmen la hiperglucèmia en l'avitaminosi *B*, i l'acció de la vitamina *B* i la insulina, demostrada ja per un de nosaltres i per nombrosos autors. Volem fer notar, d'una manera especial, com la insulina *per os* pot, també, realitzar el mateix efecte, encara que d'una manera més dèbil.

5.^e *Lactacidèmia*. — La lactacidèmia en l'avitaminosi *B*, descrita per Collazo i Morelli (79) i confirmada per Pugliese (64), Negri (31), etc., ha estat observada una vegada més en els nostres treballs. També hem vist que la insulina en injeccions actua molt dèbilment, mentre que la vitamina *B* redueix l'àcid làctic de la sang al seu valor normal o per sota d'aquest, mitjançant algun dels seus preparats (lots 4.^t i 5.^e). La funció de resíntesi d'àcid làctic o glucogen, entorpidada en l'avitaminosi *B*, es recupera en els animals per administració d'autolitzat de llevat.

6.^e *Glutation de la sang*. — La riquesa de la sang en glutacion és com un mirall de l'estat dels teixits. En l'avitaminosi, i confirmant els resultats de Randoïn i Fabre (72), es presenta un descens molt notable de glutacion, que torna a assolir una xifra normal i àdhuc superior per la vitamina *B*. En el mateix sentit, però en menor grau, actua la insulina (Collazo i Munilla (74), Varela, Duomarco i Munilla (75), J. Pi-Suñer Bayo (76).

CONCLUSIONS

1.^a Es comproven de nou les alteracions del metabolisme hidrocarbonat descrites ja per diversos autors, en confirmació dels estudis iniciats per un de nosaltres: hiperglucèmia, hipoglucogènia, hiperlactacidèmia, retenció d'àcid làctic i àcid fosfòric en el medi intern, i disminució del glutatíon de la sang i els òrgans.

2.^a La vitamina *B* (autolitzat de llevat de cervesa) regularitza el metabolisme patològic de l'avitaminosi, establint en general valors normals, acompanyats del guariment de la malaltia experimental. Algunes fraccions, especialment el clorhidrat de vitamina *B*, posseeixen més intensament aquestes propietats.

3.^a La insulina posseeix en l'avitaminosi la seva acció glucogènica habitual i efectes secundaris sobre el metabolisme intermediari, per bé que en grau inferior a la vitamina *B* de l'autolitzat, i sense anar acompanyada d'eficàcia guaridora, ja que els animals moren en avitaminosi, a despit d'una milloria relativa dels símptomes bioquímics. Aquesta funció de la insulina es manifesta àdhuc per via oral. Podem concloure dels nostres estudis, en confirmació de les investigacions realitzades el 1923 per Bickel i Collazo, que res no ens autoritza fins ara per suposar una identitat entre la vitamina *B* i la insulina. La semblança d'acció no es deu a una influència específica de la insulina en l'avitaminosi, i, inversament, les alteracions del metabolisme hidrocarbonat de l'avitaminosi no són d'origen pancreàtic exclusiu. L'efecte que en aquests casos exerceix la insulina és el mateix que el que realitza sobre l'organisme normal o diabètic, estimulant la glucogènesi.

4.^a La carència de vitamina *B* origina una malaltia de la nutrició, caracteritzada per un quadre d'assimilació defectuosa dels hidrats de carbon, independent d'una disfunció pancreàtica inicial.

*Departament de Biologia Experimental
de la Universitat de Berlín*

BIBLIOGRAFIA

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 distròfies per retard. Barcelona, 1929; edició castellana, 1930. Libro homenaje a Marañón. Madrid, 1929.
3. *Ejkmann*, Archiv. Path. Anat. u. Physiol., 148, 523; 1897.
4. *Braddon i 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 i Simonet*, Comt. Rend. Acad. Scienc., 177, 903; 1923.
10. *Collazo i Funk*, Journ. of Metabol. Resch., 5, 187; 1924. Id., 5, 195; 1924. Comt. Rend. Soc. Biol., 92, 997; 1925. Rev. 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 i 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*, Comt. Rend. Soc. Biol., 93, 652; 1925. Id., 93, 1333; 1925. Id., 94, 226; 1926.
20. *Randoïn i 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 i Munilla*, Rev. Med. del Uruguay, julio de 1928. Comt. rend. Soc. Biol., 99, 1448; 1928. *Collazo, Varela i Rubino*, Comun. Soc. Biol. Montevideo, 1928. *Collazo i Rubino*, Comun. Soc. Biol. Montevideo, 1928. *Collazo*, Deuts. Med. Woch., 39; 1925.
26. *Fisher*, Tesis doctoral, 1925.
27. *Borghi*, Bioch. e 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 i Gros*, Bioch. Journal, 19, 633; 1925.
31. *Negri*, Bioch. e Terap. sperim., 16, 10; 1929.
32. *Sure*, Journ. biol. chem., 1930.
33. *Stucky*, Amer. Journal of Physiol., 89, 1; 1929.
34. *Kon i Drummond*, Bioch. Journal, 21, 632; 1927.
35. *Pelczar*, Bul. Acad. polonaise Med., 219; 1929.
36. *Pi-Suñer Bayo, J., i Farrán, M.*, Rev. Med. Barcelona, 11, 493; 1929.
37. *Collazo i Ghose*, Bioch. Zeits., 139, 285; 1923.
38. *Bickel i Collazo*, Deuts. med. Woch., 45; 1923.
39. *Collazo i Alpern*, Zeits. f. d. g. exp. med., 35, 288; 1923.
40. *Kauffmann-Cosla i 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 i Sosa*, Actas y trabajos del Congreso de Med. Arg., 6, 877; 1926.
46. *Pugliese*, Arch. soc. biol., 11; 1928.
47. *Collazo i Supniewsky*, Comt. Rend. Soc. Biol., 92, 370; 1925. Gasetta 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. *Randoïn i Lecocq*, Bull. Soc. Chim. biol., 11, 745; 1929.
51. *Collip*, Journ. Biol. Chem., 56, 513; 57, 63; 1923.
52. *Winter i Smith*, Journ. of physiol., 61, 5; 1925.
53. *Funk i Corbitt*, Proc. S. exp. biol. med., 20, 422; 1923.
54. *Neuberg*, en Oppenheimer's Handbuch der Biochemie, segunda edició, 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, segona edició. Fischer, pàg. 133. Jena, 1930.
58. Euler, Myrbäck i Nilsson, *Ergebn. der Physiol.*, 26, 557; 1928.
59. Collazo i Goslino, *Comun. Soc. Biol. Montevideo*, 1927.
60. Funk i Schönborn, *Journ. of Physiol.*, 48, 328; 1914.
61. Collazo, *Bioch. Zeits.*, 134, 194; 1922.
62. Ogata, *Verh. der Japan. Path. Gess. 10 Tagung. Toquio*, 1920.
63. Randoïn i 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 i 84; 1921.
67. Hess, *Zeits. physiol. chem.*, 117; 284; 1921.
68. Magne i Simonet, *Bull. soc. biol.*, 4, 419; 1922.
69. Anderson i Kulp, *Journ. biol. chem.*, 52, 63; 1922.
70. Roche, *Arch. intern. physiol.*, 24, 413; 1925.
71. Abderhalden, *Arch. ges. physiol.*, 201, 416; 1923.
72. Randoïn i Fabre, *Bull. Soc. Chim. biol.*, 9, 1027; 1927.
73. Collazo i Rubino, *Comun. Soc. Biol. Montevideo*, 1929.
74. Collazo i Munilla, *Comun. Soc. Biol. Montevideo*, 1929.
75. Vavela, Duomarco i 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 i 200, 1; 1925.
79. Collazo i Morelli, *Journ. de physiol. et de path. gen.*, 24, 54; 1925.
80. Lawaczec, *Zeits. f. physiol. chem.*, 125; 1923.
81. Collazo, *Bioch. Zeits.*, 145; 1924.
82. Adachi, *Bioch. Zeits.*, 143; 1923.
83. Asada, *Bioch. Zeits.*, 141; 1923.
84. Morinaka, *Bioch. Zeits.*, 133; 1922.
85. Yoshiue, *Bioch. Zeits.*, 148; 1924.
86. Hirabayashi, *Bioch. Zeits.*, 145, 18; 1924.
87. Di Giorgio, *Archiv. di fisiologia*, 24, 215; 1927.
88. Fiske i Subarow, *Science*, 65, 403; 1927.
89. Eggleton, P. i A., *Bioch. Journ.*, 21, 190; 1927.
90. Embden i Zimmermann, *Zeits. physiol. chem.*, 167, 114; 1927.
91. Nachmansohn, en Oppenheimer's Handb. f. Biochem. Ergänz., pàg. 162; 1930.
92. Lungsgaard, *Bioch. Zeits.*, 217, 162; 1930.
93. Robinson, *Biochem. Journal*, 16, 809; 1922.