

ACCIÓ DE LA VITAMINA B-2 SOBRE EL METABOLISME DELS GLÚCIDS I LA REDOXIDACIÓ EN ELS TEIXITS

per

J. A. COLLAZO

C. PI-SUÑER I BAYO

INTRODUCCIÓ : LES VITAMINES B-1 i B-2

Tots els fisiòlegs que s'han ocupat fins ara de l'avitaminosi B (carència dels factors B-1 i B-2) han demostrat l'existència de greus alteracions del metabolisme en els animals sotmesos a les dietes desvitaminitzades. Sabem que la carència estudiada com a avitaminosi B és la resultant d'una alimentació deficient en diferents factors hidrosolubles, amb propietats biològiques i físico-químiques diferents, si bé de procedència molt semblant. Gairebé tots els materials rics en l'efecte vitamínic B formen un complex, de dues vitamines, com a mínim, la B-1 i la B-2, amb propietats ben determinades i característiques i posseïdores de diferents efectes biològics específics, segurs i insubstituïbles entre ells o per substàncies d'una altra classe. El grup vitamínic B ha estat reconegut durant llarg temps per l'efecte antineurític, preventiu i curatiu de la malaltia provocada per la seva carència en l'alimentació dels animals (colom, rata, gos, mico, etc.) elegits com a test biològic per a la seva de-

mostració. Segons es fes ús del test colom o del test rata, els efectes observats es referiren específicament, al començament, a l'acció preventiva i curativa de l'atac convulsiu neurític en el primer; o a un estímul del creixement, constatat per l'augment progressiu de pes, en la segona. Posteriorment s'ha pogut comprovar que aquests dos efectes procedeixen de substàncies diferents. En l'estat actual de les nostres recerques, hem d'admetre, en el grup vitamínic B, l'existència d'una vitamina B-1 antineurítica, amb un mecanisme d'acció encara poc conegut, i una altra B-2, anomenada indistintament d'assimilació, de creixement o de conservació del pes, que nosaltres hem proposat anomenar glucofixadora, pel seu paper en l'assimilació i concentració de les reserves dels glúcids. Anteriorment hem descrit (1922-1930) un conjunt d'alteracions del metabolisme format per hiperglucèmia, hipoglucogènia, hiperlactacidèmia i carbonúria, acompanyat d'un notable descens dels glutations de la sang i dels òrgans, atribuïts a la carència de vitamina B, sense especificar aleshores a quin dels seus factors (1). L'observació de la constància de la carbonúria i de l'augment paral·lel del quocient C/N en l'orina del gos alimentat amb un règim mancat de totes les vitamines [Bickel (2)] fou posteriorment atribuït a l'absència exclusiva de vitamina B [Collazo i Munilla (3), Roche (4), Gómez (5), etc.] i en el grup B específicament de la vitamina B-2 o factor termoestable del llevat de cervesa [Kon (6), Roche (7)] en les anàlisis verificades en la rata en avitaminosi B. Per altra banda, Mme. Randoin i Lecoq (8) constataren que el colom era millor que la rata per a investigar l'efecte estimulants sobre l'assimilació i conservació del pes que posseeix la fracció termoestable del llevat de cervesa (vitamina B-2); fet confirmat més tard per diferents autors, aconseguint separar per llurs propietats físico-

químiques l'efecte B-1, antineurític, i l'efecte B-2, de creixement. Mme. Randoïn i Lecoq identificaren aquest últim amb una «vitamina d'utilització nutritiva» dels glúcids, resistent al calor sec o humit i a l'oxidació i hidrogenació, però molt sensible a la hidròlisi alcalina i a la irradiació ultravioleta.

Efectivament, la vitamina B-2 pot separar-se de la B-1, a partir d'una mateixa solució o matèria prima, per diversos procediments : a) Per dissolució en l'alcohol al 92 per 100. La vitamina B-1 es dissol, mentre la B-2 es manté insoluble [Chick i Roscoe (9)]; b) per adsorció, agitant amb gel silícic s'adsorbeix completament la B-1, quedant en el filtrat la B-2 [Levene (10)] sola o amb altres substàncies [Salmon (11), Randoïn i Lecoq (12)]; c) per irradiació perllongada amb llum ultravioleta es destrueix la B-2 deixant intacta la B-1 [Hogan i Hunter (13), Kennedy i Palmer (14)]; per alcalinització en calent es destrueix ràpidament la B-2, i més tard la B-1 [Randoïn i Lecoq (15), Williams (16)]; per escalfament, en solució diluïda, en l'acidesa natural del llevat, es destrueix completament la B-1, quedant la B-2, que solament es destrueix en alcalinitzar feblement o en una acidesa forta (Williams L. c.); f) per precipitació per l'acetat de plom, que separa la vitamina B-1 de la B-2 [Rosedale (17). Vegi's literatura fins 1929 en un treball de Kruse i Mac Collum (18) i propietats químiques en un altre de Guha del 1931 (19)].

Les recerques referents a l'especificitat del factor termoestable B-2 sobre el metabolisme hidrocarbonat, són encara molt escasses; descartant els treballs ja esmentats de Kon i Roche, en els que es demostra que el llevat escalfat a l'autoclau per damunt de 100° conserva l'efecte d'estimular el recanvi del carbon dels sucres, fent retrocedir a xifres normals el quocient C/N urinari en

les rates en avitaminosi B, i les publicacions de Mme. Randoïn i Lecoq, demostrant que la perllongació de la vida i conservació del pes dels coloms tractats amb llevat escalfat a l'autoclau, és deguda a una excitació de l'assimilació dels glúcids, no hi ha encara en la literatura referències que tendeixin a demostrar una separació neta dels desordres del metabolisme en un síndrome produït per la vitamina B-2.

En els nostres treballs anteriors sobre les alteracions del metabolisme dels sucres en absència del complex vitamínic B, llur total guariment i llur profilàxia, per mitjà de l'addició de l'autolitzat, no havíem pensat a aïllar en l'autolitzat, el factor B-2 del factor B-1, per a determinar a quin dels dos corresponia el paper etiològic en la glucopatia vitamínica; ignorant, doncs, la funció fisiològica de regulació que exerceix el factor B-2 sobre el metabolisme intermediari dels glúcids.

La funció del complex B en la regulació dels glúcids havia estat demostrada primitivament en els animals en avitaminosi B (absència de B-1 i B-2) per un de nosaltres a partir del 1922 i confirmada definitivament en l'actualitat per una llarga sèrie d'autors (vegi's la literatura en el nostre treball esmentat). Igualment hem demostrat l'efecte de la vitamina B, de l'autolitzat de llevat, en el metabolisme dels animals alimentats amb dietes normals i completes, revelant així que hi ha una identitat total en l'acció de l'autolitzat sobre la glucèmia, l'assimilació dels sucres, la glucogènia i l'òxido-reducció (glutation) dels animals, sigui quin sigui llur estat, si bé amb diferència en el grau d'intensitat.

Efectivament, en rates, coloms i conills en estat normal, en avitaminosi B o sotmeses a un violent exercici muscular, l'autolitzat de la llevadura augmenta la glucogènia, l'assimilació del sucre i minva la hiperglucèmia

i molt especialment la retenció d'àcid làctic en els òrgans i en la sang i també estimula l'òxido-reducció, enriquint l'organisme en glutation [Collazo, Pi-Suñer Bayo i Liss (20). Pi-Suñer Bayo i Liss (21), Pi-Suñer Bayo, Liss i Osuka (22)]. Els treballs recents, en vies de publicació, d'un de nosaltres sobre «Las vitaminas del zumo de naranja; su riqueza y efectos biológicos en el organismo animal», tracten d'aïllar l'etiologia del síndrome glucodistròfic avitaminós i demostren que es deu a l'absència de vitamina B-2. La hiperglucèmia, hiperlactacidèmia, hipoglucogènia, etc., igual que la hipoglutationèmia, la baixa de la reserva alcalina i la hiperuricèmia que caracteritzen la carència de vitamina B en el colom, es curen per addició de suc de taronja escalfat a 100°, durant dues hores, totalment faltat de vitamina B-1. El paper gluco-regulador exclusiu de la vitamina B-2 s'ha demostrat en l'estímul que produeix en la glucogènia, en la seva acció depressora sobre la lactacidèmia d'esforç, en el seu efecte hipouricèmic i alcalogen (reserva alcalina de la sang), etc., comprovats en el conill normal o en règim acidogen [Collazo (23)]. En aquest treball ens proposem d'examinar l'efecte de la vitamina B-2, aïllada per escalfament en vas obert o oxidació a l'aire de solucions diluïdes, riques en el grup vitamínic B.

En primer lloc hem examinat : a) El *llevat de cervesa* (autolitzat) per a veure fins a quin punt són comparables els resultats dels nostres treballs anteriors ja esmentats emprant autolitzat sense escalfar (existència de B-1 i B-2) amb els efectes de l'autolitzat escalfat a 100° durant dues hores i mitja (existència de B-2 i destrucció total de B-1); després, b) explicarem els experiments d'un de nosaltres amb el *suc de taronja fresc i escalfat a 100°*, respectivament, i per últim, c) l'acció d'un extracte àcid de diverses plantes, molt ric en el

complex B, i en àcid inositaexosaforfòric.¹ A continuació descrivim les condicions de les nostres experiències, discutim els resultats des del punt de vista de l'especificitat de la vitamina B-2 i presentem, per últim, les nostres conclusions assenyalant la seva importància en l'estudi de les vitamines.

MÈTODE D'ELECCIÓ PER A AÏLLAR LA VITAMINA B-2

L'escalfament a 100-120° durant una a tres hores, de solucions diluïdes d'autolitzat de llevat, suc de taronja i extracte de plantes molt riques en complex vitamínic B (B-1 i B-2), com a mètode per a aïllar l'efecte B-2 per destrucció del B-1.

Les vitamines B-1 i B-2 es troben juntes en la naturalesa, incloses en el mateix material : fruites, fulles verdes, arrels, llavors, microorganismes (llevat i bacteries), teixits i secrecions animals, etc. El fet que certes races de llevat, assenyalades per Hauge i Carrick (24) i les llavors del mira-sol, segons Mattei (25) desprovistes de factor B-1, antineurític, siguin en canvi molt riques en factor B-2 termoestable, ha estat negat posteriorment per Schmitz i George (26) que comprovaren l'existència de B-1, encara que en quantitats petites. En general, podem admetre la presència simultània dels factors B-1 i B-2 (encara que en concentracions diferents) en tota substància natural rica en el complex B.

Com separar llurs efectes biològics?

1. En totes les descripcions que vénen a continuació en parlar d'«extracte de plantes» ens referim sempre al preparat de la Cristallo, S. A. de Thusis (Suïssa) «Vitophós», que ens fou subministrat pel seu representant a Espanya, «Chemirosa Ibérica, S. A.» de Barcelona.

Pels resultats que segueixen considerem com a mètode d'elecció per a la separació, l'escalfament a uns 100° de solucions de vitamina B, en llur acidesa natural, i moderadament diluïda. La tècnica per a confirmar la destrucció de la vitamina B-1 consisteix a comprovar en el colom avitaminòsic, atacat de convulsions, l'efecte d'una determinada dosi o el resultat de l'addició d'una petita quantitat del producte la riquesa vitamínica del qual es vol conèixer (com a profilàctic), ja des del començament de l'experiència. Un cop comprovada l'absència parcial o total de vitamina B-1, mitjançant dilucions progressives, pot apreciar-se el grau per 100 d'aquesta destrucció, deduint-lo de la insuficiència dels efectes curatiu o preventiu. En el cas d'ésser les solucions riques en vitamina B-2, s'ha d'emprar durant llarg temps el tractament preventiu (trenta a cinquanta dies), el qual constitueix un test per a calcular l'existència i concentració de la vitamina. Quan s'empra el colom en règim avitaminòsic B (carència de B-1 i B-2) com a animal-testimoni, és necessari elevar la dosi, ja que gairebé sempre la riquesa en B-2 dels fruits, teixits animals, etc., és molt més baixa que la de B-1, referint-les ambdues al mateix pes i volum. Com a règim avitaminós B en el colom, hem emprat el clàssic procediment de l'arròs blanc, al qual hem afegit farina d'ossos i sorra, per la seva riquesa en sals i per a facilitar la trituració del gra. Com ja sabem, la gana va minvant progressivament a mesura que es va agreujant l'avitaminosi, i la hipoalimentació, primer, i la inanició, després, perllonguen la vida dels animals, que estalvien les vitamines consumides en proporció a la petita quantitat d'aliments ingerida [Collazo i Funk (27)]. La inanició instintiva és un veritable profilàctic de l'avitaminosi [Collazo (28)]. Per a evitar aquest fenomen, que falsejaria les experiències,

cinc dies abans de sacrificar els animals en avitaminosi simple, els hem donat l'alimentació suficient per «gavage», farina d'arròs, 10 gr.; farina d'ossos, 2 gr.; sorra rentada, 3 gr. D'aquesta manera operarem en igualtat de condicions, ja que els animals tractats per llevat, suc o extracte de plantes, fresc o escalfat, conserven fins al final llur gana natural, ingerint 10-15 gr. diaris d'arròs. La gana depèn del factor B-2, que probablement estimula les secrecions digestives.

PREPARACIÓ I COMPROVACIÓ DEL MATERIAL VITAMÍNIC EMPRAT EN LES EXPERIÈNCIES

El material vitamínic fou preparat segons normes iguals per a les tres substàncies examinades:

a) *L'autolitzat de llevat de cervesa.* — Un quilo de llevat fresc de cervesa, rentat i premsat, es dilueix en un litre d'aigua corrent i després d'agitar bé es distribueix, en porcions de 250 cc. en matrassos de boca ampla, tapats en cotó, prèvia addició de 5 cc. de cloroform, que es renova els dies següents. L'autolisi es realitza a la temperatura del laboratori, 20-31° (estiu) durant set dies, agitant amb freqüència. El rendiment, si bé suficient per a les nostres necessitats, no assoleix l'obtingut a 40° durant setanta-dues hores. Decantem el líquid que sobreneda, centrifuguem dues vegades i conservem en lloc fresc l'autolitzat a punt de servir. Aquest autolitzat no té albúmina ni sucre, és de color bru fosc i transparent. 1 cc. = 0'6 gr. de llevat. La seva activitat sobre el colom amb atac de polineuritis és de 0'8 cc. Diluït al doble del seu volum amb aigua destil·lada, l'escalfem a 100° durant dues hores i mitja en un Erlenmeyer, perllongat amb un tub de vidre de 25 cm.

de llargada i prou gros per a permetre l'entrada d'aire, servint en part de reflux del vapor d'aigua; un cop acabada la destrucció del factor B-1, completem amb aigua destil·lada fins al volum primitiu i examinem, novament, la seva activitat antineurítica en un colom pres d'atac: a la dosi de 0'8 cc. no cura a les tres hores; augmentat a 5 cc., no s'observa cap efecte a les setze hores; no milloren l'atàxia ni la flacidesa general; el colom menja arròs i, per últim, mor. La mateixa experiència es portà a cap en dos coloms nous amb convulsions, i s'obtingué una lleu acció sobre l'espasme a les divuit hores, després de 12 cc. d'autolitzat escalfat i sense cap milloria dels altres símptomes. La ingestió d'1 cc. d'autolitzat fresc, no escalfat, esvaeix totalment el quadre a les tres hores, observant-se gran apetit, recuperació del vol, suspensió de les diarrees, descàrrega de biurats, etc.

Aquest autolitzat escalfat, faltat de poder B-1, fou emprat en les experiències referides en el protocol 1.

b) *Suc de taronja*. — Per premsat de la polpa de diverses taronges de la varietat «Washington Navel» de València, i colant el suc per una glassa, obtinguérem un suc molt actiu, quan és fresc, en el colom avitaminòsic atacat de convulsions (en general n'hi ha prou amb una dosi de 2 cc. i de vegades d'1 cc.). Escalfant dues hores i mitja (una hora ja és prou) a 100° en les mateixes condicions que l'autolitzat anterior, perd totalment el seu poder antineurític, no ja en dosis d'1 cc. sinó cinc vegades més grans. Vegi's un exemple. A un colom en avitaminosi, atacat de convulsions, se li administren 5 cc. de suc escalfat i a les sis hores continua igual. A les dotze i divuit hores se li administren, novament, dues vegades 5 cc. sense cap efecte, i a les vint-i-quatre hores està molt greu. Amb una dosi de 2 cc. de suc fresc aconseguim restablir-lo completament; administrant-li, en

els dos dies següents, solament 1 cc. Amb el suc escalfat d'aquesta manera, es feren les experiències de què tracten els protocols 2, 3, 4 i 5.

c) *Extracte àcid de diferents plantes.* — Empràrem un concentrat líquid que ens fou amablement cedit per la Chemirosa Ibèrica, S. A., de Barcelona, de gran contingut en complex vitamínic B. La seva activitat sobre el colom avitaminòsic amb atac, és de 0'5 cc.; un cop diluït al doble, amb aigua destil·lada i escalfat a 100°, durant tres hores, en les mateixes condicions que els preparats, perd la seva activitat antineurítica a la dosi de 3 cc. repetida tres vegades en vint-i-quatre hores, mentre que tractant aleshores el mateix colom amb 0'5 cc. d'extracte de plantes fresc, cura en una hora i mitja. A la dosi de 5 cc., repetida tres cops en vint-i-quatre hores, s'aconsegueix millorar l'espasme convulsiu, però no els altres símptomes; això significa una resta de vitamina B-1, pràcticament menyspreable, ja que la destrucció passà del 75 per 100. Amb aquest extracte escalfat i a partir del vintè dia de la malaltia, es tractaren durant cinc dies els coloms sotmesos a règim d'avitaminosi corresponents al protocol 6.

Un dels cinc coloms, el número 11, va morir espontàniament, amb marxa atàxica, lleugera diarrea verda i flacidesa de les potes i del coll, és a dir, amb un síndrome de polineuritis o avitaminosi B-1 força clar; contrasta, així com en els coloms tractats amb suc de taronja i autolitzat de llevat escalfats, la bona conservació del pes, que revela l'existència de vitamina B-2 en aquests preparats.

DESCRIPCIÓ DE LES EXPERIÈNCIES

Tots els coloms foren alimentats amb arròs blanc, farina d'ossos i sorra rentada amb aigua, règim que al terme de quinze a vint-i-cinc dies origina un quadre greu d'anorèxia, diarrea, hipotèrmia, eriçament, atàxia i finalment paràlisi flàcida o contractures convulsives; tots els símptomes evolucionen progressivament cap a la mort, i només es poden guarir per ingestió de vitamina B-1, que actua com a específic exclusiu.

Alguns lots de coloms avitaminòsics foren tractats durant quinze dies i després de vint de malaltia, amb 5 cc. d'autolitzat escalfat.

No realitzarem experiències de control d'avitaminosi simple, tractada amb llevat fresc, per haver publicat en el nostre treball recent, ja esmentat, diferents taules d'anàlisi corresponents a aquestes condicions experimentals. L'autolitzat de llevat fresc, emprat com a vehicle del complex vitamínic B és molt ric en ambdós factors B-1 i B-2, i l'avitaminosi B del colom produïda per l'arròs blanc és una carència d'ambdós factors.

En les taules posem solament el pes inicial i el pes final, per a no augmentar el protocol, calculant la pèrdua de pes. En les experiències amb suc de taronja escalfat seguirem, en general, les mateixes regles. En el lot tractat amb l'extracte àcid de plantes escalfat, perllongarem l'experiència per més dies, a fi d'observar si algun dels cinc coloms presentava símptomes d'avitaminosi B-1, ja que l'aspecte general dels animals era excel·lent i el pes es mantingué normal, àdhuc augmentant en alguns. En efecte, als quaranta-un dies el colom II emmalaltí clarament, confirmant la pobresa de l'extracte de plantes escalfat en vitamina B-1, antineurítica.

Tots els coloms foren sacrificats — per a analitzar llur sang, fetge i múscles pectorals — per sagnia total, mitjançant la secció de les caròtides i les jugulars, distribuint el material amb el temps mínim en els líquids d'extracció : 5 cc. de sang en aigua per a desalbuminar segons Folin; 3-5 cc. en solució d'àcid tricloracètic al 20 per 100, per a la determinació del glutatíon, etc. La sagnia d'un colom de 300 gr., ben feta, dóna de 12 a 18 cc. de sang i de vegades més i tot.

Del fetge i del múscle se n'agafen, respectivament, 2 i 5 gr., per a la determinació del glucogen, que se submergeixen en una solució calenta de potassa al 60 per 100 i la resta de l'òrgan es macera en àcid tricloracètic (Merck), al 20 per 100 i sorra per a l'extracció del glutatíon. La glucosa resultant de la hidròlisi del glucogen — mètode de Pflüger — i la glucèmia les hem determinades pel mètode Mc. Lean un xic modificat. L'àcid làctic de la sang fou determinat segons Fürth i Charnas (29), en el líquid resultant de la desalbuminació pel mètode de Folin (filtrat A), tractant-lo després amb sulfat de coure i lletada de calç per a eliminar els cossos reductors [Clau-sen (30), Hirsch-Kaufman (31), Collazo i Supniewsky (32), Meyerhof (33) (filtrat B)].

La determinació del glutatíon G-SH engloba altres cossos que contenen el grup SH, amb la tioneïna, cisteïna, àcid tiolàctic, etc., el paper dels quals és probablement igual al del glutatíon en els processos de redoxidació. El mètode de Tuncliffe (34) empra l'engrut de midó com a indicador, dosificant amb una solució n/100 de iode; si bé les xifres són un xic més elevades que amb la reacció del nitroprussiat, operant en igualtat de condicions : volum, indicador, àcid tricloracètic, etc., són perfectament comparables i àdhuc en subjectes diferents, posats en les mateixes condicions experimentals, coinci-

deixen força. Les oscil·lacions individuals són molt freqüents en les anàlisis de glucogen, glutatión i àcid l'àctic, sobretot en el colom, ja que tots es formen segons necessitat i oferta de la matèria prima. Les oscil·lacions són encara més intenses quan els animals han rebut algun agent modificador de la riquesa, regulació o utilització de tals substàncies per l'organisme. En conseqüència, en totes les sèries hem calculat el valor mitjà, sola xifra que tindrem en compte en les consideracions sobre els resultats que exposem a continuació.

RESULTATS I PROTOCOLS

Protocol I

Glucogen i glutatión musculars i hepàtics, glucèmia, lactacidèmia, glutatiónèmia i pes de quatre coloms avitaminòsics (vint dies) tractats, després, durant quinze dies, amb 5 cc. d'autolizat de llevat de cervesa escalfat a 100°, durant dues hores i mitja.

Colom n.º	Glucògen en mgr. per 100		Glutatión en mgr. per 100			Glucèmia	Lactacid. mil·ligrams per 100	Pes	
	Hep.	Musc.	Hep.	Sang.	Musc.			In.	Fin.
40	6,340	636	291	45	57	218	40	355-287	
41	3,271	459	333	57	66	216	43	355-309	
42	5,604	648	307	59	69	196	49	340-320	
48	8,891	921	318	65	73	190	36	340-315	
V. m.	6,026	666	312	56'5	65	205	42	347-308	
								Perd. = 24 per 100	

a) *El pes.* — El l'avitaminosi B (carència de B-1 i B-2) la pèrdua de pes assoleix el 37 per 100 als vint-i-cinc dies (lot de sis coloms). La pèrdua de pes millora en la rata [Mc. Collum (35)] i en el colom [Mme. Randoïn (36)] amb l'addició de la fracció escalfada del llevat (vitamina B-2). En les nostres experiències, pron-

gàrem l'avitaminosi B fins a vint a vint-i-cinc dies, aconseguint, per l'addició de llevat, suc o extracte de plantes escalfats (destrucció de B-1) elevar progressivament el pes gairebé fins al nivell inicial : les pèrdues són efectivament molt petites i pràcticament menyspreables, ja que si s'hagués continuat l'experiència uns dies, els animals haurien assolit el pes inicial, per exemple : 11 per 100 amb autolitzat escalfat, 4 per 100 amb suc escalfat, i 4 per 100 amb extracte de plantes. El desenvolupament de la corba és similar a l'obtingut amb les substàncies fresques; si bé més lent. L'estudi de la simple corba de pes ens ensenya que la nutrició no s'estabilitza, sinó que aconsegueix, gairebé, valors normals, per l'acció de la vitamina B-2.

Protocol 2

Pes inicial i final de coloms en avitaminosi simple (vint-i-cinc dies) i en avitaminosi tractada amb suc de taronja fresc o escalfat a 100°. Pes inicial i final en grams.

Colom n.º	30 dies avitaminosi simple	Colom n.º	15 dies avitaminosi, després 15 dies 5 cc. de suc fresc	Colom n.º	25 dies en avitaminosi, després 15 dies 5 cc. de suc escalfat a 100°
18	326-205	1	260-230	10	321-300
19	350-185	4	215-210	11	279-263
20	339-200	5	260-260	12	287-280
21	300-160	6	320-295	13	280-265
22	360-220	7	300-310	14	253-260
23	305-200	9	315-330	15	278-271
				16	259-235
Val. mitjà:	335-195		280-276		279-268
Pèrdua :	37 per 100	Pèrdua :	1'4 per 100	Pèrdua :	4 per 100

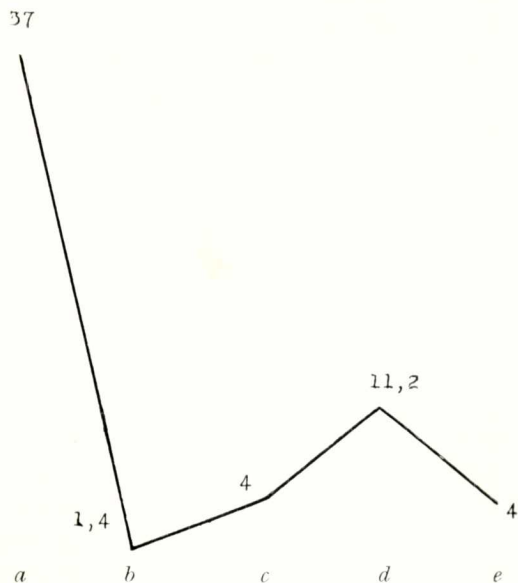
b) *El glucogen*. — Per a l'estudi del glucogen hem sacrificat els animals amb el pap ple d'arròs, unes tres hores després de la darrera ingestió del preparat ric en vitamina B-2.

El glucogen hepàtic i muscular augmenta d'una manera notable; amb tot, el fenomen és molt més clar en el fetge. Mitjançant l'autolitzat fresc obtinguérem, en un treball anterior, per al glucogen hepàtic, valors de 6,423 gr. per 100 d'òrgan fresc, i amb autolitzat escalfat, 6,026 gr. per 100; i en el muscle, 721 mgr. per 100 i 666 mgr. per 100, respectivament, o sigui, pràcticament, els mateixos efectes.

Amb el suc de taronja fresc, 2,960 gr. per 100, i amb l'escalfat, 3,071 gr. per al fetge; i 633 mgr. i 618 mgr., respectivament, per al muscle.

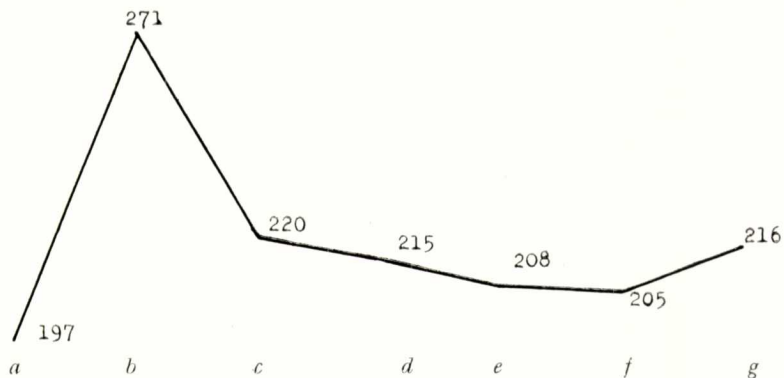
Amb l'extracte de plantes fresc no hem fet experiències, per haver estat ja repetidament demostrat el seu ric contingut en complex vitamínic B i interessar-nos, solament, l'efecte del preparat escalfat (destrucció de B-1). Glucogen hepàtic, 2,671 gr. per 100, i muscular, 399 mgr. per 100; xifres un xic inferiors a les presentades per l'autolitzat de llevat o el suc de taronja. Amb tot, s'ha de tenir en compte que l'experiència amb extracte de plantes escalfat durà cinquanta dies, mentre que les del suc o de l'autolitzat escalfats, solament en durà quinze, perquè en aquestes condicions, els coloms ja emmalaltien de polineuritis (avitaminosi B-1); mentre que amb extracte de plantes escalfat volguérem observar si la polineuritis arribava àdhuc fins a la mort espontània (cas del colom 11). El glucogen en l'avitaminosi, es troba molt minvat : glucogen hepàtic, 361 mgr. per 100; glucogen muscular, 53 mgr. per 100.

c) *La glucèmia.* — L'autolitzat, el suc o l'extracte escalfats presenten una acció hipoglucèmia evident sobre la hiperglucèmia espontània del colom en avitaminosi, comportant-se en tot com els preparats frescos i revelant la identificació d'aquest fet amb l'existència de la vitamina B-2.



Gràfica I

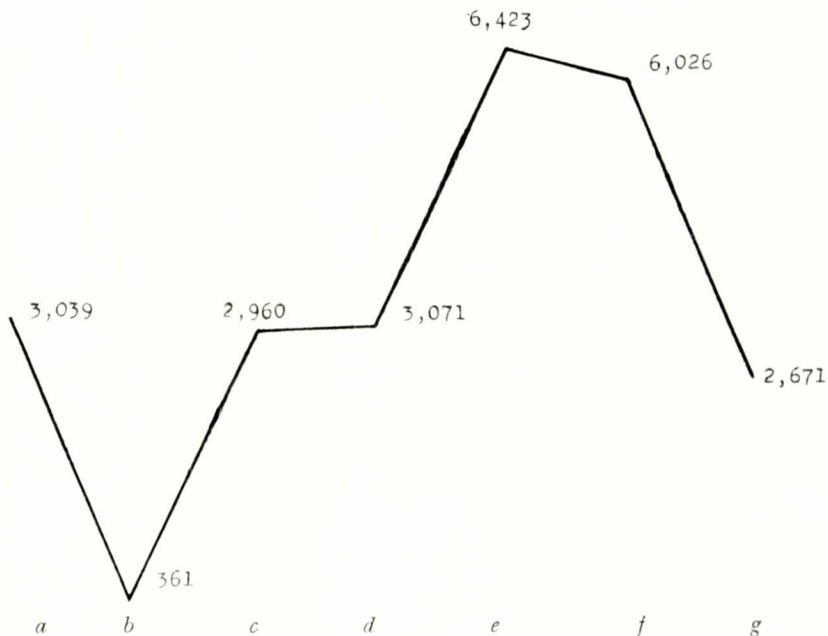
Pèrdua de pes per cent del colom avitaminós, expressant la relació entre el pes inicial i final de l'experiència
 (a) significa avitaminosi simple; (b) avitaminosi amb suc fresc (B-1 i B-2); (c) avitaminosi amb suc escalfat (B-2); (d) avitaminosi amb autolitzat de llevat escalfat (B-2) i (e) avitaminosi amb extracte de plantes escalfat (B-2)



Gràfica II

Glucèmia en els coloms avitaminosos. Oscil·lacions clares de la glucèmia, indicant l'acció moderadora de la vitamina B-2 en l'avitaminosi

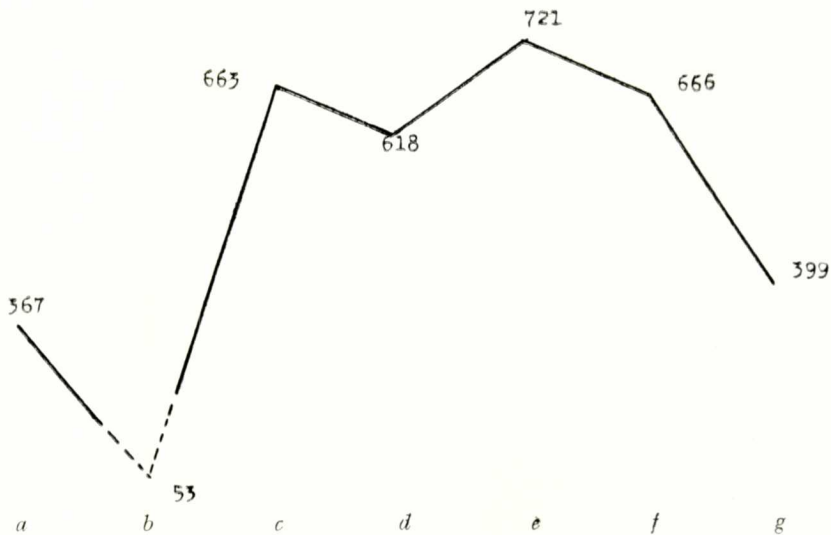
(a) colom normal; (b) avitaminosi simple; (c) avitaminosi amb suc fresc (B-1 i B-2); (d) avitaminosi amb suc escalfat (B-2); (e) avitaminosi amb autolitzat fresc (B-1 i B-2); (f) avitaminosi amb autolitzat escalfat (B-2); (g) avitaminosi amb extracte de plantes escalfat (B-2)



Gràfica III

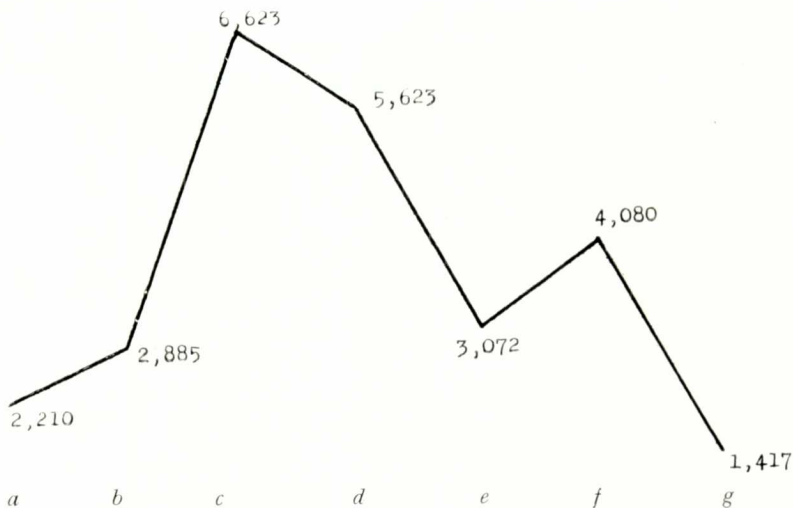
Glucogen hepàtic en els coloms avitaminosos. La gràfica destaca ben clarament l'efecte glucogenètic de la vitamina B-2, comprovat en tres preparats d'origen diferent

(a) colom normal; (b) avitaminosi simple; (c) avitaminosi amb suc fresc (B-1 i B-2); (d) avitaminosi amb suc escalfat (B-2); (e) avitaminosi amb autolitzat fresc (B-1 i B-2); (f) avitaminosi amb autolitzat escalfat (B-2); (g) avitaminosi amb extracte de plantes escalfat (B-2)



Gràfica IV

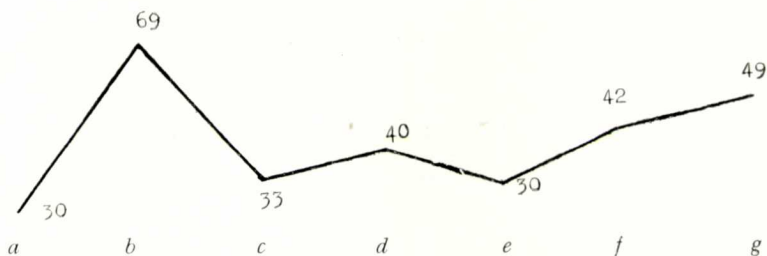
Glucògen muscular en els coloms avitaminosos. Comparant amb l'anterior s'observa el paral·lelisme de les variacions del glucogen hepàtic i muscular, salvant petites diferències
 (a) colom normal; (b) avitaminosi simple; (c) avitaminosi amb suc fresc (B-1 i B-2); (d) avitaminosi amb suc escalfat (B-2); (e) avitaminosi amb autolitzat fresc (B-1 i B-2); (f) avitaminosi amb autolitzat escalfat (B-2); (g) avitaminosi amb extracte de plantes escalfat (B-2)



Gràfica V

Variacions del glucogen hepàtic en el conill en distintes condicions experimentals

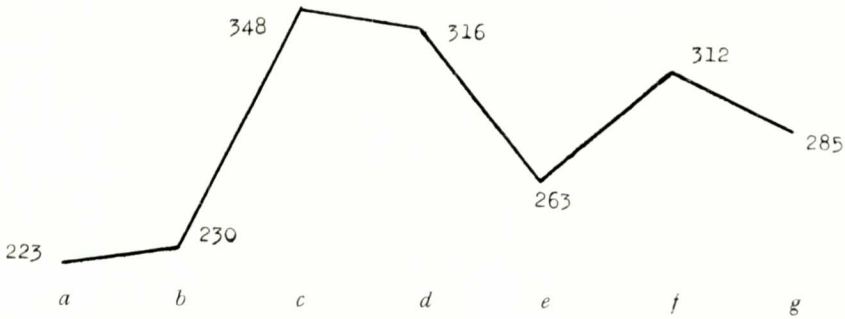
(a) colom normal; (b) glucosa sola; (c) glucosa i suc fresc; (d) glucosa i suc escalfat; (e) glucosa i suc escalfat i alcalinitzat; (f) suc fresc amb aliments; (g) suc fresc sol, en dejú.



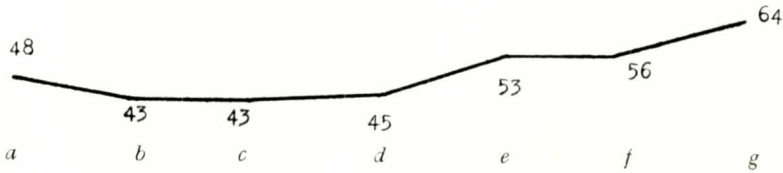
Gràfica VI

Lactacidèmia en els coloms avitaminosos. Observi's clarament la notable acció de la vitamina B-2 sobre la retenció de l'àcid làctic en la sang, afavorint probablement la seva síntesi a glucogen (a) colom normal; (b) avitaminosi simple; (c) avitaminosi amb suc fresc (B-1 i B-2); (d) avitaminosi amb suc escalfat (B-2); (e) avitaminosi amb autolitzat fresc (B-1 i B-2); (f) avitaminosi amb autolitzat escalfat (B-2); (g) avitaminosi amb extracte de plantes escalfat (B-2)

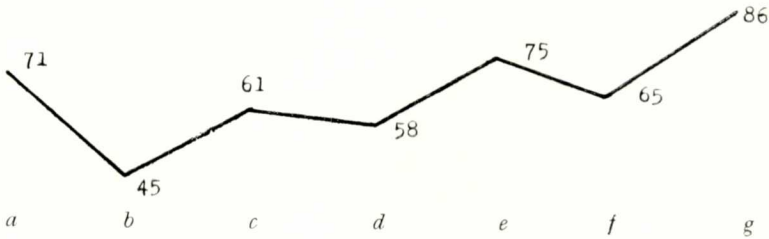
Glutacion hepàtic en els coloms avitaminosos



Glutacion muscular en els coloms avitaminosos



Glutatonèmia en els coloms avitaminosos



Gràfiques VII, VIII i IX

En aquestes gràfiques s'observa el considerable augment en la capacitat de redoxidació dels teixits per l'acció de la vitamina B-2 (a) colom normal; (b) avitaminosi simple; (c) avitaminosi amb suc fresc (B-1 i B-2); (d) avitaminosi amb suc escalfat (B-1); (e) avitaminosi amb autolitzat fresc (B-2); (f) avitaminosi amb autolitzat escalfat (B-2); (g) avitaminosi amb extracte de plantes escalfat (B-2)

Glucèmia del colom en avitaminosi B (carència de B-1 i B-2) : 272 mgr. per 100; tractada amb autolitzat escalfat, 205 mgr. per 100; amb autolitzat fresc, 208 mgr. per 100; amb suc escalfat, 215 mgr. per 100; amb suc fresc, 220 mgr. per 100; amb extracte escalfat, 216 mgr. per 100.

Aquesta acció ha estat confirmada per un de nosaltres àdhuc en animals normals (conills).

Protocol 3

Glucogen hepàtic i muscular i glucèmia de coloms en avitaminosi simple i en avitaminosi tractada amb suc de taronja fresc o escalfat a 100°.

Avitaminosi B simple (30 dies)			Avitaminosi B (25-30 dies) tractada després durant 15 amb 5 cc. de suc fresc			Avitaminosi B (25-30 dies) tractada després durant 15 amb 5 cc. de suc escalfat a 100°					
Colom n.º	Glucogen mgr. per 100		Glucèm.	Colom n.º	Glucogen mgrs. per 100		Glucèm.	Colom n.º	Glucogen mgr. per 100		Glucèm.
	Hep.	Musc.			Hep.	Musc.			Hep.	Musc.	
18	230	—	300	1	2'050	880	220	8	3'96	996	236
19	740	94	257	4	4'310	720	218	10	2'43	381	220
20	299	39	263	5	3'270	730	232	12	3'00	431	221
21	300	100	250	6	3'370	640	214	13	2'29	430	—
22	239	35	290	7	2'890	680	214	14	2'80	780	203
				9	1'870	330	226	15	3'81	400	—
Val. mitjà:								16	3'21	810	196
	361'6	53'6	272		2'960	663	220		3'071	618	215
Avitaminosi B (28 dies) tractada després amb 3 cc. de suc fresc, durant l'atac re- partits en tres preses en 18 hores				Avitaminosi B (28 dies) tractada després amb 3 cc. de suc escalfat a 100°, durant l'atac, repartits en tres preses en 18 hores							
Colom n.º	Glucogen mgr. per 100		Glucèm.	Colom n.º	Glucogen mgr. per 100		Glucèm.				
	Hep.	Musc.			Hep.	Musc.					
2	2'39	100	218	11	1'88	330	254				
3	1'32	190	239	17	2'39	418	236				
V. m.	1'885	145	228		2'135	374	245				

d) *La lactacidèmia.* — La retenció de l'àcid làctic en el colom en avitaminosi B (carència de B-1 i B-2)

ha estat ja estudiada en el nostre treball anteriorment citat : l'acumulació de l'àcid làctic es presenta primerament en els òrgans que el produeixen : múscles i fetge, i secundàriament, en la sang. La vitamina B (B-1 i B-2) de l'autolitzat fresc, té una acció franca sobre aquesta hiperlactacidèmia espontània. En el protocol 4 presentem les xifres de l'àcid làctic de la sang : lactacidèmia en avitaminosi B (carència de B-1 i B-2) 69 mgr. per 100; en el nostre treball anterior obtinguérem 5 mgr., però en el primer cas, els coloms sofrien deu dies més de malaltia; tractats amb autolitzat fresc trobàrem, aleshores, 50 mgr. per 100; amb autolitzat escalfat, ara 40 mgr.; amb extracte escalfat, 49 mgr.; essent el valor normal 30 mgr. per 100 i havent-se trobat en el treball anterior, 26 per 100. La hiperlactacidèmia és un símptoma greu i, en certa forma, persistent, ja que la vitamina B-2 continguda en els preparats escalfats, que restauren els altres valors de la sang i òrgans gairebé a un nivell normal o a xifres comparables al tractament amb suc fresc, no aconseguix fer-ho clarament amb la hiperlactacidèmia en els animals tractats amb llevat, suc o extracte escalfats, 42, 40, 49 mgr. per 100; valor mitjà, 43'7; superior en 3 per 100 al valor mitjà d'autolitzat i de suc fresc, 31'5 per 100.

Potser seria convenient de fer una pregunta que inclogui un problema. ¿La lactacidèmia depèn, almenys en part, de la vitamina B-1? Les alteracions del metabolisme hidrocarbonat són totalment independents de les modificacions del metabolisme anaerobi dels hidrocarbonats que afecta l'àcid làctic. La hiperlactacidèmia, en l'avitaminosi, tractant-se d'animals en repòs, és també independent de l'exercici o contractura muscular.

Protocol 4

Lactacidèmia en coloms normals, en coloms en avitaminosi simple i en la tractada amb suc de taronja fresc o escalfat a 100°

Normals		Avitaminosi simple (30 dies)		Suc de taronja fresc 5 cc. durant 15 dies		Suc de taronja es- calfat a 100°, 5 cc. durant 15 dies	
Col.	Lactac.	Col.	Lactac.	Col.	Lactac.	Col.	Lactac.
31	27	18	73'51	24	21	35	43'16
32	36	19	81'30	25	26	36	40'19
33	33	20	90'70	26	40	37	53'20
34	24	21	56'60	27	50	38	31'30
		22	53'22	28	30	39	36'03
		23	59'31	29	33		
Val. m.	30		69'11		33		40'77

e) El *glutation* del fetge i del múscle presenta una baixa sensible en l'avitaminosi B (B-1 i B-2). — En el nostre treball ja esmentat, constatarem el seu augment, de vegades superior a la concentració normal, per addició d'autolitzat de llevat; ací aconseguirem confirmar aquells resultats amb suc fresc i escalfat, amb autolitzat calentat i amb extracte de plantes tractat en la mateixa forma. L'anàlisi del grup —SH en aquestes substàncies ha estat positiu en tots els casos, si bé tenen una riquesa diferent : glutacion de l'autolitzat, 300 mgr. per 100; del suc, 60 mgr. per 100, i de l'extracte, 105 mgr. per 100.

El glutacion reduït del fetge avitaminós B és 220 mgr. per 100; amb autolitzat escalfat, 321 mgr.; amb suc fresc, 348 mgr.; amb suc escalfat, 316 mgr.; amb extracte, 285 mgr.; és a dir, que totes les xifres de glutacion dels fetges dels animals tractats amb vitamina B-2 de distint origen, són superiors a les dels coloms en avitaminosi B i s'acosten o sobrepassen els valors de coloms normals, donats per Collazo, Varela i Rubino (37) : 224 mgr. per 100 i Mme. Randoïn i Fabre (38) : 285 mgr. per 100.

Protocol 5

Glutation hepàtic, muscular i sanguini de coloms en avitaminosi simple i en avitaminosi tractada amb suc de taronja fresc o escalfat a 100°

Avitaminosi B simple (30 dies)				Avitaminosi B (25-30 dies) tractada després durant 15 amb 5 cc. de suc fresc				Avitaminosi B (25-30 dies) tractada després durant 15 amb 5 cc. de suc escalfat a 100°			
Colom n.º	Glutation, mgr. per 100			Colom n.º	Glutation, mgr. per 100			Colom n.º	Glutation, mgr. per 100		
	Hep.	Musc.	Sang		Hep.	Musc.	Sang		Hep.	Musc.	Sang
18	235	36	48	1	433	50	65	8	301	52	52
19	183	38	51	4	300	44	57	10	282	40	58
20	210	38	58	5	333	58	59	12	310	38	62
21	275	43	55	6	305	33	63	13	368	38	62
22	201	41	60	7	357	31	60	14	290	47	55
				9	300	44	63	15	308	46	59
								16	355	56	60
V. m.	220'80	39'20	56		348	43'3	61		316	45'3	58

Avitaminosi B (28 dies) tractada després amb 3 cc. de suc fresc durant l'atac, re- partits en tres preses en 18 hores				Avitaminosi B (28 dies) tractada després amb 3 cc. de suc escalfat a 100°, durant l'atac, repartits en tres preses en 18 hores			
Colom n.º	Glutation, mgr. per 100			Colom n.º	Glutation, mgr. per 100		
	Hep.	Musc.	Sang		Hep.	Musc.	Sang
2	280	54	66	11	310	46	57
3	321	46	66	17	265	39	68
Val. m.	300	50	66		288	42'5	62'5

En el muscle, el glutacion segueix les mateixes oscil·lacions que en el fetge; v. gr. en l'avitaminosi, 39 mgr. per 100; amb autolitzat fresc, 54 mgr. [Collazo i Munnilla (39)]; amb autolitzat escalfat, 56 mgr.; amb suc fresc, 43 mgr.; amb suc escalfat, 45 mgr.; amb extracte de plantes escalfat, 64 mgr.

La concentració normal del glutacion sanguini es de 70 mgr. per 100; en l'avitaminosi B, 56 mgr.; amb autolitzat fresc, 75 mgr.; amb autolitzat escalfat, 65 mgr.; amb suc fresc, 61 mgr.; amb suc escalfat, 58 mgr.; i amb

extracte escalfat, 86 mgr. Les variacions en la sang responen al que hem constatat en els òrgans: un augment sensible del grup —SH. La riquesa de les substàncies esmentades en glutacion reduït no explica l'augment que té lloc en l'organisme després de la ingestió de quantitats tan petites; criden l'atenció, especialment, els valors considerables del glutacion en els múscles i en la sang dels coloms tractats amb extracte; potser sigui convenient de recordar, per a interpretar-les correctament, que aquests coloms reberen, durant cinquanta dies, 3 cc. diaris del preparat concentrat, la riquesa del qual és 105 mgr. per 100, mentre els coloms tractats amb autolitzat i suc reberen solament, durant quinze dies, el preparat vitamínic. Els primers han amagatzemat una major riquesa de glutacion en els múscles; amb tot, es notable que aquestes xifres elevades no s'hagin trobat en el fetge. Probablement, el fetge no és l'òrgan de reserva del glutacion, paper potser encarregat a les càpsules suprarenals [Blanchetière i Binet (40)]; si bé hi ha en aquest òrgan altres substàncies tals com l'ergotionina [Campberg i Geiling (41)], tioexosa [Lebene i Sobotka (42)], tiofenol [Szent Gyorgy (43)], etc., rics en el radical —SH i probablement relacionades amb la funció descoberta per Loeper (44) sobre el metabolisme del sofre.

DISCUSSIÓ I INTERPRETACIÓ DELS RESULTATS

La glucopatia assenyalada per un de nosaltres i confirmada més tard per nombrosos autors, com un element fonamental en el quadre de l'avitaminosi B (carència de vitamines B-1 i B-2), presenta una etiologia més clara quan se la considera a la llum de les experiències que acabem de descriure.

Manejant solucions naturals de vitamina B, riques en ambdós factors, com l'autolitzat de llevat de cervesa, havíem pogut corregir les alteracions del metabolisme hidrocarbonat en el colom i en el gos atacats d'avitaminosi B. En efecte, la hipoglucogènia recuperava valors iguals als dels animals en règim normal; baixaven la hiperglucèmia i la hiperlactacidèmia; augmentava en proporcions normals la tolerància per als sucres, etc. Pel mètode d'escalfament, segons hem pogut veure, es destrueix la vitamina B-1, deixant intacte l'efecte de la B-2. Tots els símptomes de la glucoptia avitaminosa B cedeixen a l'autolitzat de llevat, al suc de taronja i a l'extracte de plantes fresc i desapareixen també amb els tres productes escalfats, que si bé estan desprovistos de vitamina B-1, conserven encara la mateixa concentració de B-2. És, doncs, natural que apartem completament de la nostra interpretació l'efecte de la vitamina B-1 i *que atribuïm el paper principal en la regulació del metabolisme dels glúcids a la vitamina B-2 exclusivament* [Collazo (23)].

No obstant, tenint en compte l'extraordinària varietat de substàncies que hi ha en l'autolitzat de llevat, en el suc de la taronja i en l'extracte de plantes, hom pot fer-se la pregunta següent : ¿no seria possible de referir l'efecte vitamínic B-2 a alguna altra substància termoestable continguda en aquests productes? En el llevat hi ha múltiples funcions biològiques de regulació del metabolisme hidrocarbonat : en primer lloc, tot el procés de la fermentació alcohòlica; les accions d'activació diastàsica mitjançant el coferment o cocimasa, que estimula les fases de mutació, o sigui, les mutases, en el desdoblament intermediari de la glucosa per acció del llevat sec i tractada per l'acetona; la biocatalització pel factor Z d'Euler (45), que reproduceix els efectes del coferment,

però solament en el llevat viu; la intervenció probable dels insulinoïdes anomenats glucoquinina i aïllats per Collip (46), Winter i Schmidt (47), Funk i Corbit (48), etc., en el llevat, i altres estímuls cel·lulars encara potser desconeguts. Totes aquestes accions coexisteixen en el procés de la fermentació alcohòlica de la glucosa i se les pot aïllar amb precisió per artificis experimentals, per a estudiar-les millor en les seves diferents fases. L'gran importància biològica estriba en què les cèl·lules dels vegetals superiors i de les distintes espècies zoològiques reproduïxen les mateixes etapes del clivatge molecular i de les síntesis complexes de la glucosa, a despeses precisament dels sistemes diastàsics vegetals; sistemes que es poden substituir mútuament, originant els mateixos productes. No obstant, aquestes consideracions tenien llur raó d'ésser quan encara no s'havia constatat *la integritat de l'efecte gluco-regulador en l'autolitzat escalfat*.

Per escalfament perllongat durant dues o tres hores es destrueixen completament els ferments o carbohidrasses, que es poden trobar en el llevat; el coferment, si bé termoestable, té una acció que s'ha de separar també, per manifestar-se solament en fermentació del llevat mort per l'acetona; el biocatalitzador d'Euler actua com el coferment i és també termoestable, però exerceix la seva funció exclusivament sobre el llevat viu i no augmenta la reproducció del llevat com el factor «bios» de Williams, termoestable, igualment, però, a més, alcalino-estable, contràriament a la vitamina B-2, sensiblement alcalino-làbil. Per altra banda, un de nosaltres ha demostrat que el suc escalfat i alcalinitzat a la fenolftaleïna i al tornasol, és completament inactiu en el colom en avitaminosi (li falten els efectes B-1 i B-2) sobre la glucogenesi del conill, comportant-se com una

simple solució concentrada de glucosa. En conseqüència, no es pot identificar, en l'estat actual dels nostres coneixements, l'efecte B-2 amb les funcions del coferment, del biocatalitzador Z d'Euler, o del factor «bios» i molt menys amb els sistemes d'hidrases [Abderhalden i col·laboradors (49)], perquè no resisteixen la temperatura elevada durant llarg temps, són actius «in vitro» i posseeixen acció catalítica de presència; mentre la vitamina B-2 es gasta quantitativament i no reproduïx funcions «in vitro», sinó que està íntimament lligada a la integritat histològica i biològica de la cèl·lula. El problema de la caracterització definida i clara del factor vitamínic B-2 va vinculat al del seu aïllament químic. Mentre i tant no es coneguïn la seva constitució i propietats físico-químiques, sempre subsistirà un dubte, que constitueix un estímul per a continuar investigant l'etiologia exacta de la vitaminopatia B-2.

En el nostre treball anterior atribuïem al complex hidrosoluble B, sense poder especificar a quin dels seus factors, la causa del síndrome glucodistròfic englobat en l'avitaminosi B; i de l'efecte curatiu dels preparats rics en vitamina B en deduïem una acció específica d'aquest agent biològic; en aquests experiments podem avançar els coneixements en el sentit d'haver resolt, almenys provisionalment, el problema, en admetre com a sola dipositària de l'efecte glucofixador la vitamina B-2.

Respecte al mecanisme d'acció del factor B-2 en l'assimilació dels sucres, podem avançar pocs fets nous. L'acció estimulante sobre la glucogènia, sembla constituir la funció fisiològica principal de la vitamina B-2. L'augment de la glucogènia es fa a despeses dels glúcids rebuts amb l'alimentació. En igualtat de condicions, després d'ingestió de glucosa, els animals que reben el suc escalfat (ric en B-2) amagatzemen en el fetge una quantitat

de glucogen superior al 100 per 100, analitzant a les tres hores d'iniciada l'experiència. No havent-hi en cap dels dos casos ni glucosúria ni hiperglucèmia, es pot preguntar si la vitamina B-2 no afavoreix, a més, la reabsorció intestinal dels sucres, oferint a la cèl·lula hepàtica en la unitat de temps major quantitat de glucosa. En noves sèries d'experiències ens proposem d' aclarir una qüestió tan important, relacionada amb l'efecte B-2.

La minva en la retenció de l'àcid làctic de la sang en l'avitaminosi B per addició de vitamina B-2, així com en la hiperlactacidèmia d'esforç, demostrada per un de nosaltres, podria interpretar-se també com un fenomen indicador d'un augment de la glucogenolisi, detriment de la resíntesi de l'àcid làctic, és a dir, com material d'origen endogen. Per una part la insuficiència de la concentració d'un producte complex, i per altra l'acumulació en el medi intern i en els òrgans d'un derivat hidrocarbonat, ens crida l'atenció sobre possibles alteracions en el mecanisme de síntesi del glucogen en relació amb l'àcid làctic o amb el producte que l'origina, el metil-glioxal. Vogt-Moller (50) ha plantejat darrerament la hipòtesi d'una acumulació de metilglioxal en l'organisme per a explicar els disturbis de l'avitaminosi B. La hipòtesi no ve basada sobre la determinació d'aquesta substància, actualment facilitat per mètodes aplicats a l'estudi de la fermentació de la glucosa pel llevat, plantes i teixits animals, per Neuberger i col·laboradors [entre ells un de nosaltres (51)]. L'autor suposa també l'acumulació d'aldehid com a causa de l'avitaminosi B-1, sense basar-ho sobre fets experimentalment establerts.

Se sap que per un mecanisme bioquímic intermediari encara mal conegut, l'am-glucosa (aloiomorfa o susceptible de múltiples reaccions) es transforma en

metilglixal, el qual per oxido-reducció (reacció interna de Cannizaro) s'estabilitza en part a àcid làctic. L'acumulació d'àcid làctic a la sang, demostrada per un de nosaltres i confirmada per diferents autors, podria molt bé anar acompanyada d'una retenció simultània de metilglixal. Abderhalden (49) ha observat recentment una disminució pronunciada de les dehidrasas en els òrgans del colom avitaminós (carència de B-1 i B-2). En unir aquests dos fets, podríem interpretar el mecanisme de la vitamina B-2 suposant que actua en els teixits estimulant l'activitat de les dehidrasas i especialment de les làctico-dehidrasas [Thunberg (52)] que influïrien després sobre l'àcid làctic per a modificar el metabolisme hidrocarbonat, seguint les etapes de la utilització normal de la glucosa. La dehidrasa làctica existeix en tots els òrgans i sobretot en el fetge, les llavors, els microorganismes vegetals, etc., i transforma l'àcid làctic en àcid pirúvic, servint, així, de pont entre el metabolisme anaerobi i oxidatiu dels sucres. Recolzant aquestes consideracions, podem citar l'extraordinari augment del poder oxido-reductor (glutation) que presenten la sang i els teixits dels animals en avitaminosi, tractats amb solucions riques en vitamina B-2. En el sistema d'oxido-reducció intervenen el substratum, les dehidrasas, com a ferments específics, i els acceptors de H. (Thunberg), entre els quals uns dels més estesos en el món cel·lular és el glutacion. Aquesta disminució en la quantitat de dehidrasas i de glutacion afecta a la base no solament el metabolisme dels hidrocarbonats, sinó també dels àcids grassos i aminats. Essent les dehidrasas i el glutacion els instruments específics dels processos d'oxido-reducció, és fàcil d'explicar-se la major part de les alteracions en el recanvi intermediari que es presenten en l'avitaminosi B. No obstant, en l'estat actual dels co-

neixements, hem d'assenyalar solament aquests fets ben adquirits, perquè serveixin de base a les noves experiències, que han d'explicar-nos, en tots els seus detalls, la funció bioquímica de la vitamina B-2.

Abans d'acabar, recordarem un fenomen sobre l'existència del qual no estan d'acord tots els investigadors: ens referim a la hipertròfia de les glàndules suprarenals i a l'augment de la quantitat d'adrenalina en la porció medul·lar d'aquests òrgans i en la sang dels animals atacats d'avitaminosi (carència de B-1 i B-2) [Mac Carrison (53), Rondoni (54), Findlay (55), etc.] Mac Carrison troba en 1 gr. de suprarenal 0'023 d'adrenalina en el colom normal, i 0'1206 en el colom avitaminós sotmès a règim d'arròs. En la rata, en el simi, en el gos, etc., no s'han comprovat ni la hipertròfia, ni la hiperadrenalinèmia, però l'existència en aquestes espècies de distintes reaccions biològiques no minva el valor extraordinari del descobriment de Mac Carrison i Rondoni en el colom. La hiperadrenalinèmia espontània podria significar molt bé l'element més important en la patogènia de la glucopatia vitamínica. La hiperglucèmia i la hipoglucogènia es poden explicar simplement per la hipertròfia de les suprarenals, i podem dir el mateix de la hiperlactacidèmia adrenalinica [Collazo i Supniewsky (56), Collazo i Morelli (57), Cori i Cori (58)]. La qüestió mereix, sens dubte, un estudi més profund per a poder conèixer millor la patogènia de la glucopatia per carència del factor B-2.

CONCLUSIONS

I. — En escalfar a 100-120° durant una o tres hores, solucions naturals, riques en vitamines del grup B (autolitzat de llevat, suc de taronja i un extracte àcid de

plantes (Vitophós) es destrueixen la vitamina B-1, les carbo-hidrases i els ferments, conservant-se totes les propietats de la vitamina B-2. El mètode d'escalfar en recipient obert les solucions de vitamines hidrosolubles resulta un mitjà excel·lent per a aïllar els efectes biològics de la vitamina B-2, en medi àcid.

II. — La vitamina B-2 és la que té l'acció glucogènica, òxido-reductora i hipolactacidèmica descrita anteriorment per nosaltres i nombrosos autors, en el complex vitamínic B. El mecanisme bioquímic funcional de la vitamina B-2 consisteix a produir un augment i retenció de glucogen hepàtic i muscular, a detriment del sucre alimentari d'origen exogen i de l'àcid làctic del desdoblament intermediari, d'origen endogen; i en exercir una acció hipoglucèmica i hipolactacidèmica comprovada en el colom avitaminós que presenta espontàniament hipoglucogènia, hiperglucèmia, hiperlactacidèmia i hipoglutatiónèmia. La vitamina B-2 augmenta el poder de redoxidació dels teixits — glutatión — minvat en l'avitaminosi B (carència de B-1 i B-2).

III. — Hem comprovat aquestes propietats fisiològiques de la vitamina B-2 en diferents substàncies : suc de taronja (varietat Washington Navel, de València), autolitzat de llevat de cervesa i extracte àcid de diverses plantes (Vitophós), escalfats a 100-120° en recipient obert durant una a dues hores i mitja; perden, en aquestes condicions, tot el poder antineurític (vitamina B-1) que presentaven abans d'escalfar-los.

IV. — Hi ha en tals preparats alguna altra substància coneguda, susceptible d'una acció sintètica sobre el metabolisme dels hidrocarbonats i que no sigui la vitamina B-2. Recordem el biocatalitzador Z d'Euler, termoestable, que actua solament en la fermentació del llevat viu sense produir augment de cèl·lules com el

factor «bios» de Williams, i el coferment, actiu exclusivament sobre el llevat sec o precipitat per l'acetona. No obstant, en l'actualitat, res no ens autoritza per a suposar una identificació de la vitamina B-2 amb aquestes substàncies.

*Granja experimental de Burjasot. València.
Institut de Fisiologia. Barcelona.*

BIBLIOGRAFIA

1. *J. A. Collazo i C. Pi-Suñer Bayo*, Acción de la vitamina B y de la insulina en las alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono en la avitaminosis B. *Revista Médica de Barcelona*, 8, 105; 1931. *Bioch. Zeits.*, 238-335; 1931.
2. *A. Bickel*, Vitamine, Avitaminose und disoxydative carbonurie. *Med. Woch.*, n.º 29, 1925.
3. *J. A. Collazo i A. Munilla*, Sur la pathogenie de l'avitaminose B chez le chien : la lipurie. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 99, 1448; 1929. *Rev. Med. del Uruguay*, julio 1928.
4. *J. Roche*, Des variations du rapport C/N urinaire du rat au cours de l'inanition et la carence en facteurs B. Differentiation de la mort par inanition et de la mort par avitaminose B. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 99, 571; 1928. *Id.*, 100, 849; 1929.
5. *N. Gómez*, Der Kohlenstoff-Stickstoffquotient des Harns unter normalen u. unter experimentell gesetzten pathologischen Zustände. *Bioch. Zeits.*, 167, 424; 1926.
6. *S. Kon*, On the carbon : nitrogen ratio (C/N) in the urine of rats deprived of one or boths factors of the vitamin B complex. *Journ. of Nutrition*, 1, 466; 1928. A study of the nitrogen balance in vitamin B-2 deficiency in the rat. *Biochem. Journal.*, 25, 482; 1931.
7. *J. Roche*, Essai d'isolement physiologique de la vitamine provoquant la discarbonurie et l'élimination urinaire des produits intermediaires du metabolisme des glucides. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 99, 1448; 1929.
8. *Mme. L. Randoïn i R. Lecoq*, Production du polyneurite chronique typique au moyen d'extraits de levures de biere prives de vitamine B antineuritique par traitement prealable a la terre a foulon. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 101, 11; 1929.
9. *H. Chick i M. H. Roscoe*, On the composite nature of the

- watersoluble *B* vitamin. *Biochem. Journ.*, 21, 698; 1927. *Id.*, 23, 498 i 504; 1929.
10. *P. A. Levene i M. Nuhlefeld*, On the identity or non identity of antineuritic and water-soluble *B* vitamin. *Journ. of Biol. Chem.*, 57, 341; 1923. *Id.*, 79, 465; 1926.
 11. *W. D. Salmon*, On the existence of two active factors in the vitamin *B* complex. *Journ. of Biol. Chem.*, 73, 483; 1927. *Id.*, 80, 91; 1928.
 12. *Mme. L. Randoïn i R. Lecoq*. *Vegeu R. Lecoq*, Les aliments et la vie, 64; 1929. Paris, Vigot.
 13. *A. G. Hogan i J. E. Hunter*, The plural nature of vitamin *B*. *Journ. of Biol. Chem.*, 78, 433; 1928.
 14. *C. Kennedy i L. S. Palmer*, The fundamental food requirements for the growth of the rat. III. Yeast and yeast fractions as a supplement to syntethic rations. *Journ. of Biol. Chem.*, 76, 591; 1928.
 15. *Mme. L. Randoïn i R. Lecoq*, Essai de separation au moyen de la terre a foulon des vitamines antineuritiques et d'utilisation nutritive de la levure de biere. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 99, 148; 1928.
 16. *R. B. Williams i R. E. Wattermann*, The tripartite nature of vitamin *B*. *Journ. of Biol. Chem.*, 78, 311; 1928.
 17. *S. L. Rosedale*, Studies on the antineuritic vitamin. I. Preliminary on a posible second factor. *Biochem. Journ.*, 21, 1266; 1927. *Ind. Journ. Med. Res.*, 17, 216; 1929.
 18. *H. D. Kruse i E. V. McCollum*, Biochemical Investigation of Vitamin *B*. *Physiol. Reviews*, 9, 126; 1929.
 19. *B. Ch. Guha*, Investigations on vitamin *B-2*. *Biochem. Journ.*, 25, 945; 1931.
 20. *J. A. Collazo, C. Pi-Suñer Bayo i G. Liss*, Ejercicio muscular y biocatalizadores. *Revista Médica de Barcelona*, 7, 468; 1930. *Bioch. Zeits.*, 227, 326; 1930.
 21. *C. Pi-Suñer Bayo i G. Liss*, La acción de los preparados de levadura de cerveza sobre los procesos químicos en el hígado y el músculo de los animales en ejercicio. *Anal. Soc. Esp. Fís. y Quím.*, 29, 200; 1931. *Zeitschrift. f. Physiol. Chem.*, 193, 193; 1930.
 22. *C. Pi-Suñer Bayo, G. Liss i T. Osuka*, *Id.*, *id.* *Anal. Soc. Esp. Fís. y Quím.*, 29, 193; 193. *Zeitschr. f. d. ges. Exper. Med.*, 74, 750; 1930.
 23. *J. A. Collazo*, Las vitaminas del zumo de naranja, su riqueza y efectos biológicos en el organismo animal. Conferència en el Servei del Dr. Marañon, juny del 1931 (en publicació). Efectos del zumo de naranja sobre la glucogénesis del conejo. I. Importancia de la vitamina *B-2* en el efecto glucogénico del zumo de naranja. Comunicació a la Soc. de Biología de Barcelona (19 de juliol del 1931). *Arch. Med. Cir. y Esp.*, 34, 700; 1931.
 24. *J. M. Hauge i C. W. Carrick*, A differentiation between the watersoluble growth-promoting and antineuritic substances. *Journ. of Biol. Chem.*, 69, 403; 1926.

25. P. Mattei, L'azione vitam. di sostanze termoestabile. Arch. de Fisiol., 25, 56; 1928. Arch. Farmacol. Exper., 35, 5; 1928.
26. E. Schmitz i E. George, Beitrag zur d. Einheitlichkeit des B-Vitamins. Bioch. Zeits., 204, 165; 1929.
27. J. A. Collazo i C. Funk, The requirements of vitamin B in the metabolism of foods containing proteins and carbohydrates in varying proportions. Journ. of Metabol. Res., 5, 187; 1924.
28. J. A. Collazo, Vergleichende Untersuchungen über die Assimilationsfähigkeit. Deuts. Med. Woch., 4; 1923.
29. O. v. Fürth i D. Charnas, Über die quantitative Bestimmung der Milchsäure durch Ermittlung der daraus abspaltbaren Aldehydmenge. Bioch. Zeits., 26, 199; 1910.
30. S. W. Clausen, A method for the determination of small amounts of lactic acid. Journ. of biol. Chem., 52, 263; 1922.
31. R. Hirsch-Kauffmann i G. Embden, Über Milchsäurebestimmung in Blut. Zeitschr. f. Physiol. Chem., 143, 301; 1925.
32. J. A. Collazo i J. Supniewsky, Nouvelle methode de determination de l'acide lactique du sang. Compt. Rend. Soc. Biol., 92, 340; 1925. Gac. Med. Polon., 10; 1924.
33. O. Meyerhof, Die Chemischen Vorgänge im Muskel, página 305. Springer, Berlín, 1930.
34. H. E. Tunncliffe, Glutathione. The occurrence and quantitative estimation of Glutathione in Tissues. Biochem. Journ., 19, 194; 1925. Proc. Roy., Soc., 94 266; 1923.
35. E. v. McCollum. Vegeu : E. Mc Collum i N. Simonds, Neue Ernährungslehre, trad. alemanya, pàg. 214. Urban. Berlín, 1928.
36. Mme. J. Randoín. Vegeu : L. Randoín i H. Simonnet, La question des vitamines, II, 131 i següents. París, 1927.
37. J. A. Collazo, Varela i Rubino, La redoxidación de los tejidos en la avitaminosis B. Comun. Soc. Biol. Montevideo, 1928.
38. Mme. L. Randoín i R. Fabre, Glutathion et Avitaminose B chez le Pigeon. Bull. Soc. Chim. Biol., 9, 1027; 1927.
39. J. A. Collazo i Mumilla, Acción de la vitamina B (autólizadado de levadura) sobre el glutatión de la sangre. Comun. Soc. Biol. Montevideo, 1929.
40. A. Blanchetière, L. Binet i L. Melon, Les catalyseurs thermostables. Les catalyseurs sulfurés et en particulier le glutathion. Journ. de Physiol. et Pathol. General, 27, 7; 1929.
41. D. Campbell i E. M. Geiling, Journal of Pharmacol., 28, 389; 1926.
42. P. Lebene i H. Sobotka, The thio-sugar from yeast. Journ. Biol. Chem., 65, 551; 1925.

43. A. v. Szent-Gyorgy, Zell-Atmung : VI. Zur funktion der Nebennierenrinde u. s. w. Bioch. Zeits., 181, 433; 1927.
44. J. Loeper, Decourt i J. Tonnet, Augmentation notable de la thiemie apres surrenalectomie. Compt. Rend. Soc. Biol., 94, 332; 1926.
45. H. v. Euler i K. Myrback, Gärungsprobleme. Zeitschr. f. Physiol. Chem., 181, 1; 1929. Zur Kenntnis der Biokatalysatoren des Kohlenhydratumsatzes, Zeitschr. f. Physiol. Chem., 150, 1; 1925.
46. J. B. Collip, The demonstration of a hormone in plant tissues to be known as «glucokinin». Journ. of Biol. Chem., 56, 513; 1923.
47. L. B. Winter i W. Smith, On the lowering of the blood sugar by an extract of yeast. Proc. Physiol. Soc., 40, 57; 1923.
48. C. Funk i H. B. Corbitt, The presence of a blood sugar reducing substance in yeast. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 20, 422; 1923.
49. E. Abderhalden i col-laboradors, Studien über das Wesen der Wirkung des Vitamin-B-Komplexes. Pflüger's Arch., 226, 723 i 808; 1931.
50. J. Vogt-Möller, Ist Avitaminosis B-1 eine Intoxikation mit Methylglyoxal? Bioch. Zeits., 233, 248; 1931.
51. C. Pi-Sunyer Bayo, Sobre la obtención del metilglicoxal en la descomposición del azúcar mediante el jugo de maceración de la levadura. Anal. Soc. Esp. Fis. y Quím., 28, 270; 1930. Bioch. Zeits., 213, 489; 1929.
52. T. Thunberg, Der jetzige Stand der Lehre von biologischen Oxydations-mechanismus. Oppenheimers Handbuch der Biochemie, Ergänzungsband, 2.^a ed., 245; 1930.
53. R. Mac Carrison. Vegeu: Studies in deficiency Disease. H. Frowde. Londres, 1921.
54. P. Rondoni, Zur Frage des Einflusses der Ernährung insbesondere auf den Adrenalingehalt der Nebennieren. Zeitschr. f. Exp. Med., 29, 197; 1922.
55. Findlay, Beri-beri. Practitioner, 98, 69; 1917.
56. J. A. Collazo i J. Supniewsky, Über den Einfluss des Insulins und einiger anderer Stoffe auf den Milchsäurestoffwechsel. Bioch. Zeits., 154, 423; 1924.
57. J. A. Collazo i J. E. Morelli, Recherches experimentales sur la physiologie de l'acide lactique du sang. VIII: Action des hormones sur l'acide lactique du sang. Journ. de Physiol. et Pathol. generale, 24, 76; 1926. Id., 24, 508; 1926.
58. C. F. Cori i G. T. Cori, The mechanism of Epinephrine Action. II. The influence of Epinephrine and Insulin on the carbohydrate metabolism of rats in the postabsortive state. Journ. of Biol. Chem., 79, 321; 1928. Id., id., Glycogen formation in the Liver from lactic acid. Journ. of Biol. Chem., 81, 389; 1929.