

Publicación INCAP ME/040

CONOCIMIENTOS ACTUALES EN NUTRICION

Compilación de artículos escritos especialmente para
"Nutrition Reviews" en conmemoración del XXV Aniversario de la Nutrition Foundation.

Publicado por: THE NUTRITION FOUNDATION, INC.
Ninety-Nine Park Ave., New York, N. Y. 10016

Traducido por: EL INSTITUTO DE NUTRICION DE CENTRO AMERICA Y PANAMA
Guatemala, Centro América

**Traducción autorizada al Español de "PRESENT KNOWLEDGE IN NUTRITION",
Tercera Edición, New York, THE NUTRITION FOUNDATION, INC., 1967.**

**La traducción estuvo a cargo de los siguientes profesionales del Instituto de
Nutrición de Centro América y Panamá, bajo la dirección editorial del Dr.
Guillermo Arroyave.**

**Jorge Alvarado, M. D.
Guillermo Arroyave, Ph. D.
Werner Ascoli, M. D., M. P. H.
Moisés Béhar, M. D., M. P. H.
Ricardo Bressani, Ph. D.
Cipriano Canosa, M. D.
Roberto Gómez Brenes, Ph. D.
Leonardo J. Mata, M.S., D.Sc.
Andrzej E. Olszyna- Marzys, Ph. D.
Oscar Pineda, Ph. D.
Ronal Quan, Ph. D.
Roberto Schneider, M.D.
Carlos Tejada, M. D.
Fernando Viteri, M. D., D. Sc.**

INDICE

Cap. I	Calorías	1
Cap. II	Proteínas	7
Cap. III	Carbohidratos	14
Cap. IV	Grasas	18
Cap. V	Corrección del déficit nitrogenado en pacientes quirúrgicos mantenidos por alimentación endovenosa	22
Cap. VI	Emulsiones de grasa administradas endovenosamente . . .	25
Cap. VII	Acción dinámica específica	29
Cap. VIII	Pigmento ceroides	33
Cap. IX	Diabetes Mellitus	38
Cap. X	Caries Dental	42
Cap. XI	Lesión Hepática Alcohólica Experimental	48
Cap. XII	Materias tóxicas en los alimentos	54
Cap. XIII	Vitamina A	60
Cap. XIV	Tiamina	65
Cap. XV	Riboflavina	71
Cap. XVI	Vitamina B ₆	76
Cap. XVII	Vitamina B ₁₂	84
Cap. XVIII	Acido Ascórbico	88
Cap. XIX	Vitamina D	93
Cap. XX	Vitamina E	97
Cap. XXI	Biotina	103
Cap. XXII	Vitamina K	107
Cap. XXIII	Niacina	110
Cap. XXIV	Acido Pantoténico	116
Cap. XXV	Folacín	121
Cap. XXVI	Grupos Metilo	126
Cap. XXVII	Coenzima Q	131
Cap. XXVIII	Los Minerales	135
Cap. XXIX	Hierro y Cobre	145
Cap. XXX	Fluoruro	150
Cap. XXXI	Selenio	159
Cap. XXXII	Cinc	162
Cap. XXXIII	Calcio, Fósforo y Magnesio	169

CAPITULO I

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE CALORIAS

Ogden C. Johnson, Ph.D.

Gran parte del trabajo inicial en nutrición se dedicó al estudio de las calorías o, más correctamente, del metabolismo energético. Hacia fines de la década de 1920, se habían publicado excelentes revisiones sobre este tema. Los investigadores de las décadas de 1930 y 1940 desarrollaron cifras bastante precisas sobre requerimientos de energía del hombre en distintas condiciones. En relación con estos requerimientos, se han investigado cinco ó seis áreas básicas.

El Metabolismo Basal, que representa la mayor cantidad de los gastos energéticos, generalmente se ha relacionado con la superficie corporal. Se han publicado muchos artículos para tratar de establecer valores normales para el metabolismo basal. Cuando el metabolismo basal se expresa en base al área de superficie corporal o de cualquier otra fórmula que tome en consideración el tamaño total, existen variaciones relativamente pequeñas entre individuos de la misma edad y del mismo sexo. Durante años recientes, se ha dado más consideración a los factores que tienden a modificar el metabolismo basal y se ha establecido que éste disminuye a medida que se avanza en edad. Esta disminución del metabolismo basal se toma generalmente en consideración al establecer requerimientos calóricos. Se ha encontrado, además, que el metabolismo basal aumenta durante el embarazo explicándose así parte del aumento de los requerimientos calóricos que ocurre en este estado fisiológico. Durante el embarazo, este aumento puede ser hasta de un 20% sobre el metabolismo basal característico antes del embarazo.

Los estudios sobre los efectos de la inanición han indicado que existe una reducción en el metabolismo basal después de dos ó tres semanas de inanición o de restricción calórica severa. Los estudios de A. Keys y colaboradores han indicado que la inanición prolongada puede resultar en una reducción del metabolismo basal de más de 50%. Esta reducción parece ser un mecanismo de adaptación que permite al organismo conservar energía. (F. Grande, J. P. Anderson, H. L. Taylor y Keys, *Fed. Proc.* 16, 49 (1957)).

La composición corporal tiene también cierto efecto sobre el metabolismo basal de la magnitud suficiente para explicar todo el descenso observado en inanición. Hay individuos con gran desarrollo muscular que tienen un metabolismo basal cinco ó seis por ciento mayor del que se observa en personas de la misma talla y peso, pero con menor masa muscular. Se ha dado alguna consideración a utilizar la relación entre el metabolismo basal y la composición corporal como parámetro de comparación. Sin embargo, la dificultad en obtener mediciones precisas de composición corporal hacen que este método, aún cuando teóricamente más exacto, sea mucho más difícil que el de usar la superficie corporal para fines comparativos. No obstante que se ha continuado con la obtención de información sobre los factores que modifican el metabolismo basal, particularmente el efecto de enfermedades que afectan las glándulas de secreción interna y el efecto de ciertas drogas, relativamente es poca la nueva información básica que se ha logrado en años recientes en relación con esta área del metabolismo energético.

Los gastos de energía relacionados con actividad, constituyen el segundo componente mayor de los requerimientos calóricos del hombre. Estudios sobre los gastos de energía asociados con varios tipos de trabajo, han ilustrado que es difícil aumentar grandemente el total de gasto calórico por actividad, excepto por períodos muy breves de tiempo. Se han publicado muchas tablas que indican los valores de gasto calórico por distintas actividades. El costo calórico básico de una actividad determinada está relacionado al costo calórico de la misma más la influencia del tamaño corporal del individuo y la duración de la actividad. El efecto del tamaño corporal se ha estudiado cuidadosamente y es aparente que individuos de mayor tamaño utilizan más energía que individuos menores en llevar a cabo una determinada actividad. (M.S. Malhotra, S.S. Ramaswamy y S.N. Roy, *J. Appl. Physiol*, 17, 433 (1962)).

En general, los requerimientos calóricos de tareas complicadas y difíciles representan un componente menor en los gastos calóricos totales de un individuo promedio. De mayor impacto son los costos calóricos de actividades normales tales como caminar, mantenerse de pie, estar sentado, comer, vestirse y desvestirse. Los individuos que llevan una vida sedentaria probablemente llevarán a cabo muy pocas actividades cuyo costo calórico alcance 3.5 calorías por hora por kilogramo de peso corporal. Las tareas que requieran un gasto calórico de esta magnitud o mayor, constituyen trabajo físico pesado, particularmente para individuos que normalmente son sedentarios.

El tiempo que es necesario ocupar en actividades tales como caminar para consumir una cantidad significativa de energía, ilustra claramente porqué la mayor parte de las actividades físicas no conducen por sí mismas a una marcada reducción de peso corporal en individuos obesos. Un individuo sentado, utiliza aproximadamente 0.5 calorías por kilo por hora. Al caminar a una velocidad moderada por un período de una hora, se aumenta únicamente en un poco más del doble el gasto calórico. La mayor parte de los individuos encuentran que una hora de caminar es una tarea poco compensadora en relación con las calorías consumidas. En general, el aumento de gasto calórico por ejercicio, aún cuando potencialmente de gran importancia para equilibrar la ingestión calórica con el gasto, no es una medida efectiva para el mismo fin en individuos sedentarios que ganan de 5 a 10 libras por década y que después de 25 ó 30 años, se encuentran con 20 a 30 libras por encima del peso adecuado para su talla y edad.

No existe ningún factor asociado con el metabolismo energético que haya sido menos comprendido que la acción dinámica específica, y aún cuando el aumento en la producción de calor asociado con la ingestión de alimentos fue señalado hace más de 50 años, no se ha podido todavía determinar con exactitud cuáles son los factores que causan este efecto. Es aparente, sin embargo, que una pequeña cantidad de energía consumida como alimento, se utiliza en la producción de calor y que esta energía, denominada acción dinámica específica, está directamente relacionada con los alimentos ingeridos. Se ha demostrado que no se puede sumar la acción dinámica específica de alimentos individuales, sino que es necesario establecer esta acción para la dieta total.

Sólo alrededor del 6% de la energía ingerida es consumida en forma de acción dinámica específica, por lo tanto, ésta no es de mayor importancia en el establecimiento de los requerimientos calóricos. Ha recibido mucha atención la pérdida aparente de energía debida a esta acción, ya que no está de acuerdo con los conceptos de conservación de energía que frecuentemente se atribuyen al organismo humano.

Existen muchos otros factores que influyen el metabolismo energético; dentro de éstos, está la temperatura en que el individuo vive. Se ha asumido generalmente que los requerimientos calóricos del hombre aumentan a temperaturas bajas, pero esto es de menor importancia

cuando se usa ropa adecuada. Como la producción de calor está relacionada con la regulación de la temperatura corporal, debe existir algún control para mantener la temperatura deseada del cuerpo. En temperaturas ambientales elevadas, la temperatura corporal normal se logra por evaporación de agua de la piel y de los pulmones. Existe evidencia de que los requerimientos calóricos a temperaturas ambientales sumamente altas, están ligeramente aumentados debido a la energía requerida para transportar agua hacia la superficie con el objeto de lograr sudoración y mantener así la temperatura corporal.

La temperatura ambiental es tomada en cuenta al calcular los requerimientos calóricos. Este factor, sin embargo, es de menor significación para individuos que viven en climas con poca variación de temperatura, y debe darse mayor atención a este problema en aquellas áreas donde las diferencias estacionales de temperatura pueden ser hasta de 50 a 60° F, y en donde la protección contra el ambiente no es tan completa como en los Estados Unidos.

Aun cuando la información sobre requerimientos de energía y gasto calórico pareciera estar completa en ciertos aspectos, existen preguntas que aún no han sido contestadas satisfactoriamente sobre la acción dinámica específica, los requerimientos calóricos de mantenimiento para individuos obesos y la relación entre composición corporal y fuentes calóricas. Por lo tanto, aún después de muchos años de estudios cuidadosos, las aseveraciones sobre requerimientos calóricos, fuentes de calorías y energía, y la relación entre composición de la dieta y disponibilidad de contenido de energía de la misma, deben ser consideradas con cierta cautela. Podemos citar como ejemplo, el informe de D.S. Miller y P.R. Payne (*J. Nutrition* 78, 255 (1962)) que sugiere que bajo ciertas condiciones los animales mantienen su peso corporal con ingestiones calóricas que varían ampliamente. El estudio mencionado fue hecho con cerdos y plantea muchas preguntas que aún no han sido contestadas satisfactoriamente, tales como:

Puede la energía de los alimentos convertirse directamente en energía calórica? Puede un animal, bajo ciertas condiciones, metabolizar todo el alimento ingerido? Estas son algunas de las dudas que deben ser contestadas antes de que se pueda decir que el metabolismo energético y los requerimientos calóricos han sido comprendidos.

Uno de los aspectos prácticos que se derivan del conocimiento del metabolismo energético es el desarrollo de requerimientos calóricos para varios grupos de población. El informe original del Comité sobre Requerimientos Calóricos de la Organización para la Agricultura y la Alimentación de las Naciones Unidas (FAO), apareció en 1950. Desde entonces ha habido, por parte de los nutricionistas, una re-evaluación continua de los requerimientos calóricos bajo diversas condiciones fisiológicas. El segundo informe de la FAO sobre calorías desarrollado en 1957, continúa en la misma dirección general que el del primer comité, usando el "Individuo de Referencia" pero agregando algunas modificaciones para contestar a varias de las críticas que se habían hecho del primer informe.

La definición de un "Individuo Estándar de Referencia" es un concepto fundamental para el establecimiento de requerimientos calóricos. En ambos informes de la FAO, el individuo de referencia es un hombre de 25 años de edad, con un peso de 65 kilos, que vive en una zona templada con una temperatura media anual de 10° C; mantiene su peso y tiene un programa de trabajo que lo mantiene activo durante ocho horas diarias. Es sedentario por cuatro horas cada día y duerme alrededor de ocho horas diarias. Cerca de una y media horas son dedicadas a recreación o trabajo en la casa y un tiempo igual, a caminar. Se considera que este hombre requiere 3,200 calorías diarias.

La mujer de referencia se describe en forma similar, con un peso de 55 kilos, una edad de 25 años, y que se ocupa de los oficios domésticos. Su requerimiento calórico se considera de 2,300 calorías. El embarazo y la lactancia pueden alterar los requerimientos calóricos básicos de la mujer de referencia. El aumento en las demandas calóricas debidas al embarazo resultan del balance entre la actividad reducida como consecuencia de esta condición fisiológica y las demandas adicionales que resultan de un metabolismo basal aumentado en la mujer embarazada y del crecimiento del feto. Se considera que el incremento neto en requerimientos calóricos debido al embarazo, es de 40,000 calorías.

El costo calórico de la secreción láctea, en términos de leche, ha sido cuidadosamente estudiado en muchos laboratorios, pero se conoce mucho menos sobre la eficiencia de producción y el costo calórico adicional que no está representado en la leche misma. El Comité de la FAO considera que 1,000 calorías por día satisfacen las necesidades de la lactancia.

La pregunta que siempre surge en relación con las recomendaciones nutricionales, es sobre cómo fueron determinadas. Es evidente que muchas cosas deben asumirse, aún para el establecimiento de un estándar de referencia. Puesto que los requerimientos de la FAO no son para ser usados en muchos países, es necesario considerar los factores que deben ser incluidos, y entre los más importantes, están el peso y la talla corporal de los individuos. En la mayoría de los países del mundo, el peso y la talla son considerablemente inferiores a los que corresponden a individuos de los países desarrollados, tales como los Estados Unidos y los países de Europa Occidental. Aún cuando los riesgos de la obesidad se han usado para sugerir que un tamaño corporal mayor puede ser perjudicial para la salud, es aparente que en los países desarrollados se encuentran individuos sanos, con vida más larga. La cifra de 65 kilos escogida para el hombre de referencia, es menor que la seleccionada por el Comité de Alimentos y Nutrición de la Academia Nacional de Ciencias, Consejo Nacional de Investigación (*Recommended Dietary Allowances, Sixth Revised Edition. Washington, D.C., 1964*) pero mayor que el peso promedio en muchos países. Para calcular los requerimientos calóricos utilizando las recomendaciones de la FAO, es mejor usar el peso promedio real de la población del país y calcular los requerimientos calóricos en base a kilo de peso corporal. En el informe de la FAO se incluyen tablas que dan los requerimientos calóricos promedio para individuos con distinto peso, desde 45 hasta 80 kilos.

Una vez que se han establecido las cifras de peso y talla, es necesario seleccionar el patrón de actividad y el tipo de ambiente. Para tablas de uso internacional, deben seleccionarse cifras que permitan un uso más amplio de las tablas básicas de requerimientos calóricos. Para que tengan valor los requerimientos calóricos para la población de un país determinado, éstos deben basarse en el peso real y en la actividad de esa población.

La revisión de 1964 de las "*Recommended Dietary Allowances*" introdujo varios cambios en relación con los requerimientos calóricos. Anteriormente, el gasto energético del hombre de referencia se había considerado moderado, con sólo períodos cortos de alto gasto energético. En vista del continuo aumento en el peso corporal promedio de la población de los EE. UU., es aparente que la ingesta calórica real ha sido mayor que los gastos totales de energía. Por esta razón, en la revisión de 1964 de las "*Recommended Dietary Allowances*", se han reducido las recomendaciones calóricas para el hombre y la mujer de referencia de 3,200 y 2,300 a 2,900 y 2,100 calorías respectivamente.

Además, en la revisión de 1964, se reconoce que los requerimientos energéticos se reducen a medida que una persona avanza en edad. Aun cuando parte de esta disminución está relacio-

nada con una reducción del metabolismo basal, la reducción de los requerimientos calóricos de la población de EE. UU. con la edad, está también relacionada con una disminución en la actividad física. El aumento en peso corporal con la edad que se observa en la población de los EE. UU. no se encuentra en muchos otros países, particularmente en aquellos que están en las áreas del mundo en vía de desarrollo. Los estudios de animales de experimentación sugieren que con frecuencia la longevidad se encuentra asociada a estados de ligera sub-nutrición. Los datos de las compañías de seguros indican que en ciertos casos, la ganancia de peso asociada con la edad, está relacionada con una mayor mortalidad y morbilidad. La corrección por edad reduce la recomendación calórica para el hombre de referencia de 70 kilos de 2,900 calorías a la edad de 25 años, a 2,200 calorías a la edad de 65 años.

En años recientes, se ha desarrollado considerable interés en conocer la producción real de energía en los músculos y en otros tejidos. Se sabe, desde principios de este siglo, que el trabajo muscular resulta en la producción de ácido láctico, y que éste proviene del glicógeno en el músculo. En 1930, se observó que en músculos envenenados con yodoacetato se produce contracción sin formación de ácido láctico, lo cual sugiere que también hay algunas otras fuentes de energía disponibles para el músculo. Hay estudios posteriores que indican que la fosfocreatina puede servir como fuente de energía para el músculo, y otros, establecieron que ciertos compuestos de alto contenido energético, tales como adenosinatrifosfato (ATP) participan como fuente de energía en la contracción muscular (D.R. Cain y R.E. Davies, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 8, 361 (1962)).

Aún cuando la fuente inmediata de energía para el trabajo son los metabolitos de alto contenido energético, debe considerarse que la energía de estos compuestos viene de las calorías de los alimentos. Durante muchos años se asumió que únicamente los carbohidratos podrían ser usados como fuente de energía para el trabajo muscular, por lo tanto, la glucosa o sus precursores se han considerado como los componentes más importantes de la dieta para el trabajo del músculo. En años recientes, se ha establecido que los músculos también pueden utilizar ácidos grasos como fuente de energía. (S.J. Friedberg, W.R. Horlan, Jr., D.L. Trout y H.H. Estes, Jr., *J. Clin. Invest.* 39, 215 (1960); R.J. Havel, A. Naimark, y C.H. Borchgrevink, *Ibid.* 42, 1054 (1963)). Estos ácidos grasos derivan principalmente del tejido adiposo; sin embargo, una gran porción de este tejido deriva muy probablemente, a su vez, de los carbohidratos de la dieta.

La relación que existe entre las dos fuentes básicas de calorías para el trabajo muscular, no se ha determinado claramente; pero es aparente que los niveles de ácidos grasos libres en la sangre son controlados por varias hormonas y que este control hormonal puede estar relacionado con la capacidad física. Los estudios que se han llevado a cabo en sujetos sometidos a entrenamiento, han mostrado que los niveles de ácidos grasos libres en el plasma de estos individuos son mayores y la velocidad de recambio también está aumentada en comparación con individuos sedentarios. (L.A. Cobb y W.P. Johnson, *J. Clin. Invest.* 42, 800 (1963)). Actualmente, tienen bastante interés sobre este aspecto del metabolismo energético los atletas y entrenadores. Es necesario trabajar más en este campo antes de poder recomendar dietas específicas para mejorar la capacidad física.

No obstante, que las preguntas básicas relacionadas con calorías fueron contestadas desde hace 20 a 50 años, el aspecto más práctico en relación con calorías y energía continúa siendo uno de nuestros mayores problemas de salud. Puesto que existe en los EE. UU. una población estimada de 40 millones de personas clasificadas como obesas, o por lo menos con sobre-peso, no es sorprendente que las discusiones sobre calorías y dietas se clasifiquen dentro de los tópicos de mayor interés en las reuniones sociales y en las asociaciones de mujeres. Parece

ser que aún cuando sí se cuenta con información científica sobre calorías, no hemos sido capaces de convencer a la población de que estos hechos dan la respuesta al problema de la obesidad.

Las calorías son calorías, y sin embargo, cada mes se ofrece al público una nueva dieta aparentemente apoyada por información científica. Se arguye que las dietas bajas en carbohidratos y altas en grasa resuelven el problema de las calorías. La falta de apoyo científico para estas dietas ha sido revisada por R.E. Hodges (*Nutrition Reviews* 24, 65 (1966)). Es evidente que ninguna de estas dietas es realmente exitosa; si alguna lo fuera, no habría ya necesidad de que continuara el torrente de dietas y de prejuicios.

En los EE. UU. la reducción en el gasto de energía debida a la automatización probablemente es responsable de gran parte del incremento en la incidencia de la obesidad. Sin embargo, puede ser de igual importancia la disponibilidad creciente de alimentos de alto contenido calórico, y la capacidad económica de la mayoría de las personas para comprar estos alimentos. La información científica básica sobre calorías y energía no dará suficientes respuestas a los problemas de un consumo calórico excesivo. El individuo que está determinado a equilibrar su ingestión y su gasto calórico, y que es capaz de hacerlo, puede resolver este problema de salud.

CAPITULO II

CONOCIMIENTOS ACTUALES DE NUTRICION PROTEICA

W. Duane Brown, Ph.D.

La función primordial de la proteína en la dieta, es la de proveer aminoácidos. De un total de aproximadamente 20 aminoácidos utilizados en la síntesis de proteínas, 8 deben ser proporcionados en la dieta del hombre. La biosíntesis de los otros requiere una fuente dietética de nitrógeno, la cual generalmente es la proteína.

Sin embargo, mezclas de aminoácidos en las proporciones adecuadas pueden mantener la vida animal. Tales mezclas pueden ser utilizadas con menor eficiencia que las proteínas (Q.R. Rogers y A.E. Harper, *J. Nutrition* 87, 267 (1965); W.D. Salmon, *Ibid.* 82, 76 (1964); R.A. Ahrens, J.E. Wilson, y M. Womack, *Ibid.* 88, 219 (1966)). Las determinaciones de balance de nitrógeno, o sea la diferencia entre ingesta y excreción, son útiles; pero los valores obtenidos representan solamente la suma algebraica de ganancias y pérdidas de nitrógeno.

La digestión de las proteínas es hasta cierto punto, auto-controlable, en el sentido de que la ingesta de las mismas estimula la producción o la secreción de ácido clorhídrico y de enzimas proteolíticas en el tracto gastrointestinal. Por ejemplo, un aumento en el nivel de la ingesta de proteína resulta en un aumento en la secreción de enzimas proteolíticas. (J.T. Snook, *J. Nutrition* 87, 297 (1965)). Las enzimas pancreáticas secretadas al intestino proveen una porción sustancial de lo que se llama proteína endógena. Se considera que tales proteínas, junto con las de las proteínas de intercambio de las células de la membrana mucosa, aumentan la eficiencia en absorción y utilización y previenen variaciones grandes en la distribución de los aminoácidos disponibles para la absorción. (*Nutrition Reviews* 20, 79 (1962); E.S. Nasset, *Fed. Proc.* 24, 953, 1965)). Esta hipótesis, aunque razonable, no está de acuerdo con el hecho de que la falta de uno o más de los aminoácidos esenciales en la dieta del animal resulta casi de inmediato en una respuesta negativa.

En animales adultos, se absorben solamente aminoácidos libres, no habiendo una transferencia apreciable de proteínas intactas a través de la pared intestinal. Los aminoácidos son absorbidos a diferentes velocidades (*Nutrition Reviews* 20, 306 (1962); 21, 97 (1963)); sin embargo, la tasa de absorción no es sinónimo de superioridad nutricional. Las proteínas de alto valor biológico no son absorbidas con rapidez (W.H. Griffith, *Am. J. Clin. Nutrition* 17, 391 (1965)), resultando posiblemente en una liberación más uniforme de los aminoácidos, con una pérdida menor.

Bioquímicamente no es posible aún explicar el proceso de absorción. F. Alvarado (*Science* 151, 1010 (1966)), ha sugerido que existe en la membrana un vehículo de naturaleza proteica que depende del ion sodio, el cual tiene lugares separados de atrape para los monosacaridos, aminoácidos neutros, aminoácidos básicos y para el ion sodio. La transferencia de los aminoácidos entre el plasma y la célula, es un proceso relacionado íntimamente al proceso de transferencia de los aminoácidos del intestino al plasma. Generalmente, se asume que los mecanismos son similares.

Esta transferencia se lleva a cabo en contra de un gradiente de concentración, habiendo una concentración mucho mayor de aminoácidos en los tejidos que en el plasma. Las determinaciones de nitrógeno de aminoácidos intracelulares a intervalo de tiempo después de la exposición de la célula a los aminoácidos plasmáticos muestran que los aminoácidos no son metabolizados inmediatamente o incorporados en la estructura celular, sino más bien son tomados por la célula como aminoácidos libres. Los aminoácidos así acumulados proporcionan homeostasis y permiten, dentro de ciertos límites, alimentación intermitente. La capacidad de homeostasis es limitada, ya que la proteína en exceso en la dieta es metabolizada rápidamente.

La toma de los aminoácidos por la célula depende de su distribución entre ésta y el plasma. H.N. Christensen (*Fed. Proc.* 22, 1110 (1963)), hizo notar el hecho de que se debe de considerar la relación del nivel de los aminoácidos del plasma, con el de los tejidos así como de cada aminoácido al otro. Está bien establecido que existe competencia por los mecanismos de transporte (*Nutrition Reviews* 21, 97 (1963)). La evidencia indica que para el grupo de los aminoácidos neutros existen dos sitios de transferencia, uno para el transporte de los aminoácidos neutros de cada recta y otro para la transferencia de aminoácidos de cadena ramificada.

La eliminación en la dieta de cualquier aminoácido esencial resulta en una reducción general en síntesis proteica y en un aumento de la excreción del nitrógeno. Algunas proteínas del organismo animal puede, sin embargo, responder a una proteína dietética inadecuada por medio de un aumento temporal en su tasa de síntesis. Así pues, se ha demostrado, en ratas, que dietas deficientes en treonina pueden aumentar la incorporación de aminoácidos en ciertas proteínas. (*Nutrition Reviews* 23, 111 (1965)).

Obviamente, tal aumento en síntesis no podría continuar indefinidamente. El aumento en síntesis de ciertas proteínas bajo la influencia de una deficiencia dietética de aminoácidos puede ser una medida de protección. La ingesta de calorías tiene una influencia substancial sobre la síntesis proteica, en el sentido de que una restricción calórica causa un aumento significativo en la excreción de nitrógeno debido a la utilización de proteínas tisulares como fuentes de energía. Recíprocamente, la adición de carbohidratos o grasa a dietas inadecuadas en calorías produce un incremento en retención de nitrógeno.

La insulina y otras hormonas tienen un efecto significativo sobre el metabolismo proteico. En general, los corticoides adrenales y la tiroides son catabólicos, promoviendo la transferencia de proteínas musculares, a través del pool de aminoácidos plasmáticos hacia el hígado para su metabolismo y eliminación. Otras hormonas, incluyendo la insulina, la hormona de crecimiento y la testosterona son anabólicas resultando en construcción de proteínas musculares. La insulina estimula la síntesis proteica en el músculo e induce una disminución en la concentración de los aminoácidos del plasma. Estos efectos, aparentemente, se deben tanto a una influencia en el transporte de aminoácidos como a una estimulación de la síntesis proteica en sitios distantes a los de transporte (I.G. Wool, *Fed. Proc.* 24, 1060 (1965)).

Evidencia reciente (*Nutrition Reviews* 23, 125 (1965)) sugiere que la ^Metionina en la dieta inhibe la síntesis proteica, reaccionando con ATP, incapacitándolo como fuente de energía, e inhibiendo la producción de RNA-mensajero. El efecto de vitamina D en el transporte de calcio puede ser debido a su papel esencial en la síntesis de una proteína de transporte (*Ibid* 24, 18 (1966)).

Se ha demostrado que conejos deficientes en vitamina E, pueden incorporar mayor cantidad de aminoácidos marcados en su proteína muscular que los animales controles. Sin embargo,

este efecto parece ser debido a una acumulación mayor de aminoácidos en el "pool", más bien que a un aumento en la síntesis proteica *per se*. La mayor incorporación puede ser debida a alteraciones en la permeabilidad de la célula en animales deficientes en vitamina E. (J. F. Diehl, *Nature* 209, 75 (1966)).

El efecto del alcohol etílico sobre la acumulación de lípidos en el hígado ha sido atribuido a un bloqueo en la síntesis de lipoproteínas. Sin embargo, animales que han recibido etanol pueden incorporar aminoácidos marcados, en las proteínas hepáticas, a una velocidad aproximadamente igual que las ratas testigo (*Nutrition Reviews* 24, 21 (1966)).

Los esfuerzos que se han hecho para definir los requerimientos mínimos de proteína, se ven limitados por la exactitud de los criterios usados. Los estudios sobre requerimientos proteicos se llevan a cabo usando uno de los tres métodos siguientes: (1) la determinación de la cantidad de un aminoácido esencial requerido para mantener el balance de nitrógeno en sujetos que reciben dietas adecuadas en todos los otros nutrientes; (2) la determinación de la cantidad de proteína necesaria para mantener el balance de nitrógeno; y (3) por medio de la estimación de pérdidas obligatorias de nitrógeno que deben ser reemplazadas por la proteína de la dieta. Un grupo de expertos de la FAO-WHO, han usado el tercer método para estimar los requerimientos del hombre (*WHO Technical Report Series*, No. 301, Geneva, 1965). Estos expertos recomendaron una ingesta de 0.59 g de proteína/kg de peso/día para un adulto promedio; 0.88 g para niños de uno a tres años; y 2.3 g para lactantes desde el nacimiento hasta los tres meses de edad. Estas son recomendaciones prácticas para el hombre promedio. Todos los valores están basados en la "proteína de referencia" la cual se considera que es totalmente utilizada; es necesario corregir los valores indicados por la calidad de la proteína que en realidad se ingiere. A pesar de algunas críticas justas hechas a estas recomendaciones (E.G. Holmes, *World Rev. Nut. Dietet.* 5, 237 (1965)), en general representan una estimación tan buena como cualquier otra disponible actualmente.

Varios factores pueden influir sobre los requerimientos. El informe de FAO no toma en consideración ningún cambio con la edad durante la edad adulta. Existen algunas indicaciones sin embargo, de que los requerimientos pueden estar aumentados en individuos de edad avanzada. (R.W. Wannemacher, Jr., y J.R. McCoy, *J. Nutrition* 88, 66 (1966); S.C. Tuttle *et al.*, *Am. J. Clin. Nutrition* 16, 225 (1965); *Ibid.* 16, 229 (1955)).

Los requerimientos de proteína pueden ser influenciados por la ingesta de calorías. A un nivel fijo y adecuado de ingesta de proteínas el nivel de energía de la dieta determinará el balance de nitrógeno, mientras que a un nivel fijo de ingesta calórica, el nivel proteico es el factor determinante (D.H. Calloway y H. Spector, *Am. J. Clin. Nutrition* 2, 465 (1954)). Usualmente, las proteínas no son utilizadas como fuente de energía cuando están disponibles fuentes adecuadas de calorías de CHO y de grasa, pero a ingestas calóricas por debajo de las necesidades de un animal, la proteína disponible es metabolizada para esos fines.

El stress ocasionado por el frío puede causar, temporalmente, un aumento en la excreción de nitrógeno, lo que significa un aumento en el requerimiento (*Nutrition Reviews* 21, 78 (1963)); estudios de larga duración son necesarios para confirmar esta relación.

Una ingestión adicional de proteína, durante el embarazo, probablemente no es necesaria para aquellas mujeres que normalmente consumen cantidades abundantes de proteína. El grupo de FAO, estimando que se utilizan 950 g de proteína para el crecimiento del tejido materno y del feto, sugiere un requerimiento adicional de proteína de referencia de 6 g por día, durante los

dos últimos trimestres. Asimismo, se estimó un aumento en los requerimientos de 30 g de proteína/día durante la fase más intensa de la lactancia.

Los requerimientos proteicos deben ser considerados en relación a la calidad de la proteína. La calidad de la proteína depende de la proporción de los aminoácidos en la misma. Una proteína balanceada contiene los aminoácidos en proporciones relativas adecuadas a las cantidades requeridas por el animal. Además del contenido de aminoácidos, otro factor de importancia en la calidad de la proteína es su digestibilidad.

Existe muy poca concordancia en cuanto al mejor método experimental para determinar la calidad de la proteína. La mayor parte de los métodos se basan en la respuesta en crecimiento, balance nitrogenado, o concentración de aminoácidos. Un resumen de los términos y de las fórmulas usados comúnmente en la evaluación de la calidad proteica ha sido publicada en un boletín muy útil (*National Academy Sciences-National Research Council, publicación 1100, Washington, D.C., 1963*). Dos métodos tradicionales son aún populares, a decir, Valor Biológico (V.B.) y Razón de Eficiencia Proteica (PER). El primero mide la retención de nitrógeno que es absorbido; una de sus modificaciones es la utilización neta proteica (NPU) la cual mide el nitrógeno retenido en relación al ingerido más bien que al absorbido.

Los dos están basados en las diferencias en el nitrógeno del carcás entre el grupo alimentado con la proteína de bajo ensayo y el grupo alimentado con una dieta libre de proteína. Debido a la relación entre el contenido de agua y el contenido de nitrógeno del carcás ha existido una tendencia a usar por su mayor sencillez, la determinación del contenido de agua. (*Nutrition Reviews 20, 319 (1962)*). El PER (aumento en peso/peso de proteína consumida) es menos laborioso, ya que solamente requiere pesar al animal, pero a menudo no se obtiene una relación linear. Muchos métodos usan medidas de balance nitrogenado y frecuentemente están basados en la relación entre balance de nitrógeno y nitrógeno absorbido (Índice de Balance Nitrogenado (NBI)). Ninguno de estos métodos es especialmente adecuado para aplicarlo en humanos. Se han hecho esfuerzos para desarrollar métodos basados en el nivel de aminoácidos plasmáticos (*Ibid. 21, 138 (1963)*); J.M. McLaughlin, *Fed. Proc. 22, 1122 (1963)*).

En general, las proteínas de origen animal son de mejor calidad que las de origen vegetal. Las proteínas de cereales son generalmente deficientes en lisina y en algunos casos en metionina o en triptofano; las leguminosas pueden contener poca metionina, y las semillas oleaginosas y las nueces son en general deficientes en lisina y metionina. C.V. Kies, E. Williams, y H.M. Fox (*J. Nutrition 86, 350 (1965)*) han sugerido que el nitrógeno "no específico", o sea no-esencial, y no el triptofano, es el factor limitante de la proteína del maíz. H. Fisher (*Ibid. 87, 9 (1965)*) ha puesto en duda que las proteínas de las semillas de algodón sean deficientes en lisina y metionina, concluyendo que la treonina, la leucina y la isoleucina son también limitantes.

Los factores genéticos pueden tener una influencia muy importante sobre la calidad de la proteína. Un ejemplo excelente de esto es el descubrimiento reciente de una variedad de maíz que contiene concentraciones relativamente altas de lisina y triptofano (*Nutrition Reviews 23, 336 (1965)*; W.M. Beeson et al., *Foodstuffs 38, 7 (1966)*). La calidad de la proteína de esta variedad de maíz es superior a la del maíz común y su eficiencia nutritiva ha sido demostrada. Dietas altas en proteína posiblemente no son adversas. La ingesta de cantidades altas de proteína causa usualmente una mayor excreción de nitrógeno. La actividad de las enzimas del ciclo de la urea, medida en homogenizados de hígado, se encuentra aumentada significativamente en los animales que consumen dietas altas en proteína. Tales hallazgos han sido confirmados en estudios *in vivo* en ratas (*Nutrition Reviews 22, 280 (1964)*).

El término "ímbalance de aminoácidos" se refiere generalmente a un patrón de aminoácidos en la dieta que induce a una depresión en crecimiento, el cual puede superarse por medio de la suplementación con el aminoácido o aminoácidos más limitantes. Por ejemplo, el crecimiento y la ingesta de alimento se reducen en ratas alimentadas con dietas bajas en proteína que contienen un exceso de un aminoácido esencial. (A.E. Harper, R.V. Becker y W.P. Stucki, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 121, 695 (1966)). Por lo menos una parte del efecto de tales ímbalances se debe a la influencia sobre el consumo de alimento (J.C. Sanahuja y Harper, *Am. J. Physiol.* 202, 165 (1962); Sanahuja, M. E. Rio y M.N. Lede, *J. Nutrition* 86, 424 (1965)).

El término "antagonismo de aminoácidos" se refiere comúnmente a un patrón de aminoácidos en las dietas, que causa una depresión en el crecimiento el cual puede superarse por medio de la suplementación con un aminoácido de estructura química similar al que causa el antagonismo. En contraste al ímbalance, el aminoácido adicionado no es necesariamente limitante. por ejemplo, la adición de un exceso de lisina a la dieta de pollos disminuye el crecimiento y causa síntomas similares a los observados en pollos con deficiencia de arginina; la adición de pequeñas cantidades de arginina a la dieta contrarresta el efecto observado (*Nutrition Reviews* 23, 139 (1965)). Uno de los resultados del ímbalance o del antagonismo es un aumento en el requerimiento de un aminoácido ya presente en una cantidad que, en condiciones ordinarias, sería adecuada.

El término "toxicidad de aminoácidos" se aplica a la situación en la cual el efecto adverso no puede ser superado por medio de la suplementación. Así, la metionina ingerida en cantidades excesivas causa una inhibición marcada del crecimiento de ratas y una depresión de la ingesta de alimento asociada a cambios patológicos. Estos efectos no pueden superarse usando una variedad de suplementos (*Nutrition Reviews* 23, 202 (1965)). Los efectos descritos no se observan comúnmente en poblaciones humanas.

Para el hombre, los cambios más importantes en desnutrición son aquellos debidos a la insuficiente ingesta de proteína o la ingesta de proteína de mala calidad. Aunque no existen depósitos para almacenamiento de la proteína, similares a los de grasa o CHO, se acepta la existencia de proteínas de reserva que pueden ser importantes como una defensa en contra de la privación de proteína de corta duración. Algunas proteínas tisulares se pierden rápidamente cuando los animales se alimentan con dietas bajas en proteína; tales animales muestran un aumento en su capacidad de retener nitrógeno dietético (J.B. Allison y Wannemacker, *Am. J. Clin. Nutrition* 16, 445 (1965)).

La ingesta prolongada de proteína dietética inadecuada causa trastornos serios en las proteínas tisulares. Ocurren cambios en las proteínas plasmáticas, principalmente en la albúmina, la cual se encuentra substancialmente reducida. En kwashiorkor, puede ocurrir una disminución en la síntesis de albúmina pero no en la síntesis de gama globulina. (*Nutrition Reviews* 21, 172, 209 (1963)). La reducción en los niveles de hemoglobina, en estados de insuficiencia proteica, se atribuye generalmente a la falta de los aminoácidos necesarios para la síntesis de la proteína. Sin embargo, en los animales deficientes en proteína hay también una producción reducida de eritropoietina (*Ibid.* 23, 242 (1965)). Las proteínas del organismo, además de las de la sangre y el hígado también son afectadas. Por ejemplo, las proteínas existentes en el hueso. (*Ibid.* 21, 242 (1963)).

El edema asociado con desnutrición proteica es atribuido a una variedad de factores que incluyen alteraciones en la presión osmótica causada por cambios en la concentración proteica. Existe un descenso marcado en el volumen del fluido extracelular. (*Nutrition Reviews* 24, 75 (1966)).

Como resultado de la privación proteica hay una depresión marcada en los niveles de vitamina A en el plasma, asociada probablemente a una falta de proteínas de transporte. Otras vitaminas son relativamente poco afectadas. En estados de deficiencia proteica ocurren muchos cambios en las actividades enzimáticas incluyendo una reducción en los niveles de las enzimas del ciclo de la urea y con la consecuente disminución en la excreción de urea (*Nutrition Reviews* 21, 54 (1963)). La mayor parte de las enzimas hepáticas muestran un descenso en actividad, pero los niveles de algunas de ellas permanecen constantes y otras pueden hasta aumentar (*Ibid.* 20, 280 (1962)).

Ratas privadas de proteína muestran un aumento substancial en la actividad de las enzimas hepáticas activadoras de los aminoácidos. (*Nutrition Reviews* 21, 344 (1963)), fenómeno que está probablemente asociado con un mecanismo de sobrevivencia. Es de esperar que algunos de estos cambios puedan ser utilizados algún día para diagnóstico preclínico de kwashiorkor. En este sentido es significativo que algunos investigadores hayan sido capaces de producir un síndrome parecido al del kwashiorkor en ratas (*Ibid.* 23, 27 (1965)) y en cerdos (*Ibid.* 25, 205 (1965)).

De las varias anomalías en la absorción y metabolismo de aminoácidos, la fenilketonuria ha atraído la mayor atención. Esta condición en niños resulta en aberraciones mentales. Los pacientes afectados tienen un obstáculo en la conversión de fenilalanina a tirosina, con el resultado de una acumulación de altos niveles séricos de fenilalanina y la excreción de cantidades excesivas de ciertos de sus metabolitos. Los animales en los cuales esta alteración es inducida, tienen una capacidad reducida para aprender (*Nutrition Reviews* 22, 124 (1964)). La razón de este daño al cerebro se desconoce.

Otras anomalías incluyen la homocistinuria, causada por la ausencia de sintetasa de cistationina, así como la cistationinuria y la alcaptonuria. La última resulta de la ausencia de la oxidasa del ácido homogentísico, acumulándose ácido homogentísico el cual puede ser depositado en forma polimérica en el tejido conectivo.

La enfermedad conocida como "Azúcar de arce urinaria" (así llamada por el olor) se debe a un obstáculo en la decarboxilación oxidativa de aminoácidos con cadenas laterales. Estos se acumulan en la sangre y se excretan en grandes cantidades en la orina. La regulación dietética temprana puede resultar en una pequeña mejora en la enfermedad, la cual es corrientemente fatal. (*Nutrition Reviews* 23, 260 (1965)).

Entre otras aminoacidurias conocidas están las relacionadas con la citrulina y la aloisoleucina (*Nutrition Reviews* 20, 197 (1962)), y otras que consisten en un defecto de absorción y transporte (véase S.J. Saunders y K.J. Isselbacher, *Gastroenterology* 50, 586 (1966); *Nutrition Reviews* 22, 138 (1964)).

En los Estados Unidos probablemente no existe un problema serio de deficiencia dietética de proteína. Sin embargo, el problema es severo en muchas regiones del mundo. La prevalencia de kwashiorkor ha sido objeto de estudios considerables, y se han realizado muchos esfuerzos para remediar este problema. Algunas soluciones sugieren la mejor utilización de proteínas vegetales disponibles, la suplementación de dietas con concentrados proteicos y aminoácidos, y el aumento en la cantidad de proteína de origen animal en las dietas. Varios de estos programas, como por ejemplo los que usan Incaparina y el alimento Indú "multi-purpose food", han tenido relativo éxito. La aprobación reciente por el Food and Drug Administration de los EE. UU. (véase el Registro Federal de Feb. 2, 1967) sobre la producción comercial en cantidades limitadas de concentrado de proteína de pescado, permitirá la utilización de una importante

nueva fuente. Tales concentrados, con niveles altos de una proteína de calidad excelente, podrían ser factores importantes en controlar la desnutrición proteica que afecta al mundo. Las soluciones no están limitadas por una falta de conocimientos sobre nutrición proteica, sino más bien por consideraciones técnicas y sociológicas.

CAPITULO III

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE CARBOHIDRATOS

Robert E. Hodges, M.D.

Las fuentes de carbohidratos comprenden la mayor y más variada cantidad de alimentos en el mundo. Puesto que estos alimentos dan la mayor producción por unidad de área de terreno, pueden ser considerados entre los más importantes para la sobrevivencia humana. Las poblaciones del mundo derivan más de la mitad de sus nutrimentos de alimentos ricos en carbohidratos, los cuales varían de una a otra área del mundo pero tienen mucho en común. Dichos alimentos son relativamente fáciles de cultivar y por consiguiente son de bajo precio; tienen buen sabor y pueden ser almacenados por períodos razonables de tiempo sin que se deterioren. Entre estos alimentos básicos pueden incluirse el arroz, el maíz, el trigo y la patata.

Afortunadamente, como la mayoría de las fuentes naturales de carbohidratos, estos alimentos llevan consigo cantidades substanciales de importantes vitaminas y minerales, además de pequeñas pero valiosas cantidades de proteínas. Aunque en general, las proteínas vegetales tienen un valor biológico más bajo, o sea una combinación de aminoácidos menos adecuada para el crecimiento de los mamíferos - que una proteína de origen animal, contribuyen vitalmente al contenido total de proteínas de la dieta. Probablemente, no es simple coincidencia que en la mayoría de las naciones exista por lo menos una receta tradicional favorita que combine granos o productos vegetales con leche, queso u otros alimentos de origen animal. Esta mezcla mejora grandemente tanto el patrón de aminoácidos como el sabor. Por ejemplo, en países orientales, el arroz es servido frecuentemente combinado con pequeñas cantidades de pescado u otra carne.

Por todo el mundo, las amas de casa tendrían gran dificultad de preparar comidas atrayentes si los alimentos que contienen carbohidratos fueran escasos. Todas las razas humanas, incluyendo a los esquimales quienes tienen una gran predilección por panes y dulces cuando éstos pueden ser obtenidos, han acogido los alimentos ricos en carbohidratos (P. Freuchen, *Book of Eskimos*, D. Freuchen, Editor. The World Publishing Company, Cleveland, Ohio, 1961). Afortunadamente los alimentos que contienen carbohidratos son de bajo precio. En las naciones subdesarrolladas, donde gran número de individuos subsisten con cantidades de dinero muy limitadas, el porcentaje de calorías en la dieta derivadas de carbohidratos es muy alto.

Cuando ocurren crisis naturales o políticas y el hambre se pone de manifiesto, el porcentaje de carbohidratos en la dieta generalmente aumenta aún más y simultáneamente disminuye la ingesta calórica total *per capita*. Finalmente, por supuesto, se llega a un punto donde la inanición sobreviene. Lo contrario sucede cuando las naciones se vuelven más opulentas. Bajo estas condiciones, generalmente aumenta en forma progresiva el porcentaje de calorías derivadas de grasas y proteínas así como la cantidad total de calorías en la dieta.

J. Yudkin (*Lancet* I, 645, 1956); 2, 155 (1957); 2, 4, 1964)) ha hecho énfasis sobre el mayor uso del azúcar en la dieta de las naciones a medida que éstas se vuelven más opulentas. Este aumento en "alimentos dulces" se basa generalmente en alimentos altamente purificados que han perdido la mayor parte de sus otros nutrimentos. Más aún, a medida que el consumo de dulces

aumenta, el uso de carbohidratos complejos (almidones) disminuye proporcionalmente de tal manera que el resultado es una marcada disminución en la razón de azúcares complejas a simples. Este cambio en las fuentes de carbohidratos ha sido estadísticamente asociado con una mayor incidencia de aterosclerosis y experimentalmente, con alteraciones en los lípidos de la sangre (Yudkin y J. Roddy, *Lancet* 2, 6 (1964); M.A. Antar, M.A. Ohlson, y R.E. Hodges, *Am. J. Clin. Nutrition* 14, 169 (1964); A.M. Cohen, *Am. Heart J.* 65, 291 (1963)). Ha sido indicado, que un aumento en la porción de carbohidratos administrados en forma de sucrosa trae como consecuencia un marcado aumento en la concentración de triglicéridos en el suero sanguíneo y, aunque menor, un aumento en concentración de colesterol. La substitución del azúcar por almidón muestra un efecto opuesto (P.T. Kuo y D.R. Bassett, *Ann. Int. Med.* 62, 1199 (1955); M. Winitz, J. Graff y D.A. Seedman, *Arch. Biochem, Biophys.* 108, 576 (1964)).

Los carbohidratos tienen también varias funciones fisiológicas. Su efecto anticetogénico es bien conocido pero la cantidad requerida para este propósito es pequeña (J.L. Gamble, G.S. Ross, y F.F. Tisdall, *J. Biol. Chem.* 57, 633 (1963)). Igualmente, los carbohidratos tienen la habilidad de conservar agua y electrolitos aún cuando sean suministrados solamente en cantidades de alrededor de 100 g. por día (W.L. Bloom y G.J. Azar, *Arch. Int. Med.* 112, 333 (1963)). El efecto de ahorro de los carbohidratos sobre las proteínas ha sido reconocido durante muchos años en nutrición animal. Para el hombre, esto es de particular importancia en situaciones cuando el suministro de alimentos es escaso, no solamente en el planeamiento de programas para poblaciones en las naciones poco desarrolladas sino también en situaciones de emergencia, tales como raciones para sobrevivencia, alimentación en vehículos espaciales y misiones militares. El "Food & Nutrition Board" (*Recommended Dietary Allowances, Sixth Revised Edition. National Academy of Sciences-National Research Council, Washington, D.C. 1964*) sugiere que un adulto normal requiere aproximadamente 500 calorías por día derivadas de carbohidratos.

Al presente existe un marcado interés en el diseño de dietas populares para la corrección de la obesidad. (*The Drinking Man's Diet, vide infra*). La mayor parte de la publicidad en torno a este enfoque dietético no cuenta con la aprobación de la profesión médica, aún cuando haya algunos científicos y médicos que respalden este procedimiento. Todas las dietas de este tipo están basadas en el principio de restricción de carbohidratos. Nosotros sabemos, que esta dieta fue probada hace más de 100 años (y tal vez, aún antes). La forma de su reaparición al presente es muy parecida.

Un especialista en oídos, nariz y garganta de Londres llamado William Harvey casualmente asistió a una conferencia en París, presentada por el famoso Claude Bernard. En esta conferencia, se hizo mención del papel del hígado en la secreción de glucosa. Harvey quien para ese entonces ya tenía conocimiento del efecto que una "dieta basada en alimentos de origen animal" tenía en la reducción de la poliuria en pacientes con diabetes, se impresionó con la similitud existente entre la obesidad común y la obesidad que acompaña algunas formas de diabetes mellitus. Aparentemente, fue esta observación la que lo indujo a recetar a uno de sus pacientes más obesos (y sordo) una dieta que suministraba al menos 24 onzas de carne y la cual permitía pequeñas cantidades de bebidas alcohólicas; pero que restringía dulces y alimentos farináceos. El paciente, un tal William Banting, no solamente bajó de peso sino que recobró el poder auditivo. Harvey se impresionó tanto con este resultado que publicó y popularizó esta dieta en 1863. En esta forma, la dieta baja en carbohidratos fue presentada al público en una forma similar a la reciente presentación de "la dieta del bebedor", "*The Drinking Man's Diet*" (J. Alsop, *McCall*, 138, May (1965); R. Wernick, *Saturday Evening Post* 84, (1965)).

De tiempo en tiempo se afirma, generalmente por gente profana, que "las calorías no cuentan", o que una persona puede "comer, comer y comer su propio peso". Estas opiniones por supuesto no están confirmadas por los hechos. (G. Trotta, *Harper's Bazaar* 72, Julio (1965)). Un número de científicos serios han examinado la aparente pérdida de peso que sigue inicialmente al uso de dietas bajas en carbohidratos. A.W. Pennington (*Am. J. Clin. Nutrition*, 1, 100 (1953)) estaba tan firmemente convencido que la obesidad resultaba no de una excesiva cantidad de calorías sino del consumo de alimentos inadecuados, p.e. carbohidratos, que publicó muchos artículos sobre este tema. Asimismo, A. Kekwick y G.L.S. Pawan (*Metabolism*, 6, 447 (1957)) estudiaron sujetos obesos alimentados con una ingesta constante de calorías pero provenientes de diferentes fuentes, carbohidratos, o proteínas o grasas. Estos autores informaron, que los sujetos a los que les fue dada una dieta alta en grasa fueron los que perdieron peso más rápidamente y aquellos que consumieron una dieta rica en carbohidratos los que bajaron de peso más lentamente. Desafortunadamente, estos estudios fueron de una duración relativamente corta (10 a 21 días).

Otros investigadores que probaron dietas similares por períodos de tiempo más prolongados han mostrado que realmente la pérdida de peso se debe a un déficit calórico (T.R.E. Pilkington, H. Gainsborough, V.M. Rosenoer, y M. Carey, *Lancet* 1, 856 (1960); E.S. Olesen y F. Quaade, *Ibid.* 1, 1048 (1960)), aún cuando es cierto que sí se observaron cambios temporales de peso en estos estudios cuando las grasas o los carbohidratos predominaban en la dieta. En casi todos los casos, los carbohidratos dieron como resultado una pérdida más lenta de peso o aún una ligera ganancia por unos días, mientras que las grasas propiciaron una pérdida más rápida de peso por unos días. Generalmente, estas divergencias de la curva general de pérdida de peso fueron de grado y duración moderadas. La conclusión final fue que las pérdidas de peso ocurren como resultado de un déficit acumulativo de calorías. Yudkin (*Ibid.* 2, 939 (1960)) observó que seis personas alimentadas con una dieta baja en carbohidratos perdieron peso debido a que consumieron menos calorías que anteriormente.

Aún cuando unos pocos científicos han sugerido que los carbohidratos no son esenciales en la dieta humana (G.M. Briggs, en *Nutrition Reviews* 23, 95 (1965); O. Mickelsen, *Nutrition Science and You*. National Science Teachers Association, Washington, D.C., 1964) las consecuencias metabólicas de la abstinencia completa de carbohidratos son aparentemente indeseables. Algunos científicos se han referido a los esquimales como ejemplo de poblaciones que anteriormente, en forma habitual y voluntaria, casi no comían carbohidratos. En realidad, cuando se considera la forma en que los esquimales procesan sus alimentos es posible que su ingesta de carbohidratos sea ligeramente mayor de lo creído anteriormente. La carne recién congelada contiene considerablemente más glucógeno que la que se ha dejado permanecer a temperatura del cuerpo por algún tiempo. Puesto que la mayor parte de la caza llevada a cabo por los esquimales se hace a temperaturas por debajo de 0°C y los animales son destazados en el mismo lugar, el congelamiento rápido de la carne era el resultado inevitable. Más aún, los esquimales comen habitualmente considerables porciones de carne cruda congelada y por consiguiente, pueden haber obtenido mayor cantidad de glucógeno de la que se consume normalmente en la carne obtenida comercialmente.

Otra costumbre curiosa de los esquimales que pudo ayudar a incrementar la cantidad de carbohidratos en sus alimentos, es la preparación de una serie de delicadezas preparadas por medio de fermentación, durante el corto período de verano, de cárcases de pájaros o focas en recipientes formados por pieles de foca recubiertas de una gruesa capa de grasa de ballena. El producto fermentado se deja congelar durante el invierno. Estos alimentos, incluyendo vísceras, eran comidos crudos, con gran deleite. Freuche (*loc. cit.*) describe las diferentes porciones de estos pájaros y focas fermentados como de colores excepcionales y sabores deliciosos. Por

ejemplo, una porción podría ser verde y tener sabor a queso Cheddar mientras otra podría ser "muy dulce" y tener un sabor fuerte.

Desde luego, aunque puede ser posible, no se sabe si el crecimiento de bacterias y de levaduras convierte algunos aminoácidos a carbohidratos. Alternativamente, el sabor dulce podría provenir de glicerol libre. Con relación a los esquimales una observación adicional parece pertinente. Para ellos, obesidad era un signo de gran belleza y por consiguiente era común y elegante. Si los esquimales consumieran una dieta de proteínas y grasa, como algunos autores nos harían creer, y si este tipo de dieta no produjera obesidad, habría que buscar una explicación diferente al respecto.

La ausencia completa de carbohidratos en la dieta ha sido tolerada por largos períodos de tiempo por personas sanas. W.S. McClellan y E.F. Dubois (*J. Biol. Chem.* 87, 651 (1930)) y E. Tolstoi (*Ibid.* 83, 753 (1929)), describieron dos sujetos que durante un período de un año consumieron únicamente carne y grasa. Estas dos personas eran científicos quienes habían vivido en el Artico y que aceptaban este tipo de dieta sin mucho disgusto. Hubo algunos períodos cortos de malestar, incluyendo irregularidades de la función intestinal, pero las dos personas fueron capaces de proseguir sus actividades con poca dificultad.

Se encontró, sin embargo, que estas personas mostraban un aumento ligero en la concentración de nitrógeno no proteico, un aumento transitorio de nitrógeno de ácido úrico en la sangre, y trazas de acetato en la orina. Se notó asimismo, que el suero sanguíneo de estas personas mostraba una lipemia visible. Determinaciones de colesterol indicaron un marcado aumento hasta 800 mg por 100 ml en un sujeto y hasta 315 mg por 100 ml en el otro, con una tendencia de estos niveles a disminuir con el tiempo. La lipemia sugiere una alta concentración de triglicéridos pero éstos no fueron determinados.

Existen algunas similitudes entre dietas sin carbohidratos e inanición. Bloom y Azar (*loc. cit.*) han observado que la deficiencia de carbohidratos resulta en una pérdida de agua y electrolitos, cetosis y síntomas subjetivos de fatiga. Aparentemente, los dos sujetos en el estudio de McClellan no experimentaron fatiga y uno debe asumir que los esquimales del pasado no fueron afectados por la fatiga debida a la falta de carbohidratos.

Obviamente, el hombre puede sobrevivir sin carbohidratos por períodos prolongados de tiempo. Sin embargo, los carbohidratos previenen la aparición de cetosis y la pérdida de electrolitos, tienen un efecto de ahorro sobre las proteínas, y disminuyen la necesidad de ingerir una dieta alta en grasa, que de otra manera sería necesaria para proveer una ingesta calórica adecuada. Más aún, los carbohidratos que son generalmente considerados como de sabor agradable no conducen por sí mismos a la "gordura". En vista de la relación entre hiperlipidemia e hiperuricemia, por una parte (como resultado de una baja ingesta de carbohidratos), y un aumento potencial en los procesos ateroscleróticos por la otra, parece sensato mantener la práctica de incluir en la dieta proteínas, grasas y carbohidratos. Esto debe aplicarse no solamente a dietas normales sino también a aquellas diseñadas para reducción de peso (*Diseases of Metabolism*, G. G. Duncan, Editor. W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1964)). Los intentos de "escritores y periodistas" sin ningún adiestramiento en métodos científicos de tratar al público, podrían resultar en más daño que beneficio.

CAPITULO IV

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE LAS GRASAS

Por James F. Mead, Ph.D.

La grasa es un componente muy importante de la dieta humana, por varias razones: 1) por su alto valor calórico, 2) por hacer más apetitosas las comidas, 3) por contener los ácidos grasos esenciales como componentes de las grasas naturales, y finalmente, 4) por ser portadoras de las vitaminas liposolubles. La grasa es la forma más importante de energía de depósito en el cuerpo animal, no sólo debido a su cantidad sino a su alto valor calórico (más de dos veces el valor calórico de los carbohidratos) y por depositarse convenientemente con un mínimo de aumento de peso sin necesidad de cantidades apreciables de agua o minerales. La cantidad óptima de grasa en la dieta no puede determinarse con exactitud. Se sabe, eso sí, que pueden existir variaciones muy amplias y que éstas son compatibles con un estado de salud normal. El National Research Council en su publicación titulada "*Recommended Daily Dietary Allowances*" de 1948 recomendaba que una dieta promedio debería de contener entre 20 a 25% de sus calorías como grasa y que para una persona activa con una ingesta de 4500 calorías, así como para niños y adolescentes, el porcentaje debería elevarse al 30 ó 35% de las calorías (*Nutrition Reviews* 6, 319 (1948)). Estas cantidades fueron aceptadas por el British Medical Association Committee on Nutrition (*Ibid.* 6, 191 (1948)), así como por la American Medical Association Council on Food and Nutrition (*Ibid.* 21, 36 (1963)). De los aproximadamente 100 g de grasa recomendada en estas dietas, una tercera parte o la mitad de la misma estaría normalmente en forma de grasas visibles tales como mantequilla, margarina y otras grasas.

La posibilidad de que una reducción en la cantidad de grasas de la dieta fuera beneficiosa fue propuesta en los trabajos epidemiológicos de A. Keys y colaboradores efectuados hace varios años, los que indicaron que poblaciones con dietas que contenían de 8 a 14% del total de calorías en forma de grasa tenían un promedio de colesterol sérico 25 a 50% más bajo que el encontrado en personas de países en los cuales la grasa formaba del 38 al 41% del total de calorías (*Nutrition Reviews* 14, 67 (1956)). Sin embargo, esta discusión respecto a la cantidad exacta de grasa en la dieta para el público en general, perdió significado ante los resultados de M.J. Albrink y otros, quienes demostraron que una disminución en la cantidad de grasa en la dieta va acompañada de un aumento en la cantidad de carbohidratos, la que puede correlacionarse con un alza en la cantidad de triglicéridos sanguíneos, factor que también puede correlacionarse con la incidencia de enfermedad coronaria en términos semejantes a lo observado con el colesterol sérico (*Ibid.* 20, 233 (1962)). El hecho de que el colesterol sérico y los niveles de triglicéridos en el suero reflejan la concentración de lipoproteínas y el que las mismas parecen tener relación, aún cuando de manera desconocida con la enfermedad aterosclerótica del corazón (*Ibid.* 21, 36 (1963)), hacen pensar que, como en muchos otros problemas, se deben evitar extremos en lo que respecta a la cantidad de grasas que una dieta debe tener, particularmente, si se sabe que la exclusión rigurosa de grasas de la dieta puede resultar en una pérdida de micronutrientes liposolubles que acompañan a las grasas, incluyendo los ácidos grasos esenciales.

Por otro lado, en los últimos años se ha venido acumulando evidencia referente a que el tipo de grasa consumida puede ser de importancia. En un experimento en el cual se administró a ratas una dieta con 20% de grasas, se encontró que los animales tenían un crecimiento mejor cuando un 30% de los ácidos grasos de la dieta eran saturados (*Nutrition Reviews* 14, 221 (1956)). Trabajos recientes de H.J. Thomasson (*J. Nutrition* 57, 17 (1955)), han indicado, por otra parte, que el índice de crecimiento no es un criterio completamente confiable, ya que ratas a las que se les administraron dietas altas en grasa, mostraron una mayor longevidad asociada a un menor índice de crecimiento. Varios investigadores, llevando a cabo estudios con seres humanos y animales de experimentación, observaron que cuando la proporción de grasa en las dietas administradas estaba formada en gran parte por ácidos grasos no saturados se producía una disminución en el colesterol sérico (*Nutrition Reviews* 15, 1 (1957)). Este efecto se presenta aún cuando la cantidad total de grasas en la dieta fuera alta y era producido por grasas tales como los aceites de pescado y de distintas semillas, así como los ácidos grasos poliinsaturados más purificados (*Ibid.* 14, 327 (1956); 18, 9 (1960); 19, 117 (1961)). Se ha sugerido que se puede lograr una reducción de un 15% del colesterol sérico si se aumenta la proporción de los ácidos poliinsaturados a saturados de la dieta de la relación usual de 0.4 a 1.1 ó más (N. Jolliffe *et al.*, *N.Y. State J. Med.* 63, 69 (1963)). El mecanismo o mecanismos por los que se produce este efecto, siguen siendo desconocidos.

Absorción de las grasas. En individuos normales las grasas son absorbidas hasta en un 95% o más, exceptuando los glicéridos completamente saturados que son pobremente absorbidos (*Nutrition Reviews* 3, 278 (1945); 5, 155 (1947); 14, 200 (1956)). En malnutrición severa (*Ibid.* 15, 36 (1957)), ictericia obstructiva (*Ibid.* 15, 167 (1957)) y en ciertas otras enfermedades, la absorción de grasa es pobre dando origen a esteatorrea cuando se absorbe menos del 90%. Estas condiciones pueden ser aliviadas algunas veces administrando agentes emulsificantes tales como el Tween 80 (polioxietilensorbitan monooleato) (*Ibid.* 7, 205 (1949)).

Las teorías actuales sobre la absorción de grasas han sido revisadas recientemente por J.R. Senior (*J. Lipid Res.* 5, 495 (1964)), K.J. Isselbacher (*Fed. Proc.* 24, 16 (1965)), y otros. Las grasas son, en su mayoría, hidrolizadas a ácidos grasos y monoglicéridos por acción de la lipasa pancreática a nivel del intestino delgado, donde son emulsificadas gracias a la ayuda de sales biliares hasta llegar a formar micelas, las cuales son absorbidas a través de las microvellosidades de la célula intestinal. En el interior de la célula estos ácidos grasos, y los monoglicéridos, utilizando cantidades adicionales de glicerol derivado en su mayor parte de carbohidratos, son recombinados para dar origen de nuevo a triglicéridos. Los triglicéridos así formados, aparecen en la linfa unidos a lipoproteínas de baja densidad y alto peso molecular llamado quilomicrones, siendo transportados de esta manera, vía el conducto torácico, a la sangre. Con los triglicéridos se absorben otras sustancias liposolubles necesitándose en efecto que exista una absorción adecuada de triglicéridos para que estas sustancias sean a su vez, absorbidas de manera eficiente. El colesterol es absorbido en cantidades que varían ampliamente dependiendo de la especie animal y de la dieta del mismo. En presencia de ácido oleíco puede absorberse hasta un 50%, pero cuando es administrado solo, su absorción es mucho menor. A pesar de que los ésteres de colesterol son completamente hidrolizados en el intestino un 70% del colesterol absorbido aparece esterificado en la linfa y es transportado también en los quilomicrones hacia el hígado donde es convertido en su mayor parte a ácidos biliares. Los ácidos biliares son re-excretados al intestino delgado y reabsorbidos con los productos de la digestión grasa en una forma cíclica. Este ciclo entero hepático de las sales biliares y del colesterol permite una regulación de la síntesis del colesterol en el hígado por medio de un sistema de control negativo (negative feedback). Es en parte por esta razón que la eliminación del colesterol de la dieta no es completamente eficiente en la regulación del colesterol sanguíneo (*Nutrition Reviews* 16, 42, (1958)).

Metabolismo. Gracias a una investigación intensa llevada a cabo en varios laboratorios, se conocen al presente los mecanismos de biosíntesis y oxidación de los ácidos grasos y otros lípidos, así como algunos aspectos de los mecanismos de regulación que controlan estos procesos. Los lípidos que aparecen en la sangre provenientes de la linfa son transportados esencialmente como quilomicrones a los tejidos, principalmente al hígado y al tejido adiposo para su metabolismo y almacenamiento. En la mitocondria hepática, los ácidos grasos son activados como tioésteres de la coenzima A, un derivado del ácido pantoténico. En esta forma activa estos ácidos grasos se pueden utilizar para la síntesis de varios lípidos complejos u oxidarse para la producción de energía. En el esquema de la beta oxidación elucidado en los laboratorios de F. Linen (*Ann. Rev. Biochem.* 24, 653 (1955)) y de D.E. Green (*en Lipid Metabolism*, K. Bloch Editor. John Wiley & Sons, Inc., New York, 1960) y otros, los derivados del tipo acil CoA son oxidados a acetil-coenzima A con la producción de energía en la forma de ATP. La acetil-coenzima A puede entonces oxidarse y dar origen a bióxido de carbono y agua a través del ciclo de Krebs con la producción de una cantidad mayor de ATP; otra posibilidad es que la acetil-coenzima A se condense a aceto acetato. En condiciones tales como diabetes y ayuno prolongado, el aceto acetato y otros cuerpos cetónicos aumentarán de una manera considerable su concentración, debido especialmente al metabolismo aumentado de las grasas que se observa frecuente en estas condiciones. Es interesante observar que el aceto acetato es también el punto de partida para la biosíntesis del colesterol, la cual a su vez está relacionada a la ingesta de una dieta alta en grasas.

El grado en que las grasas se depositan en el tejido adiposo está en parte controlado por la cantidad de grasa y carbohidrato de la dieta. La cantidad de lípidos sanguíneos está influenciada por la cantidad de grasa dietética. Por otra parte, la liberación de grasa del tejido adiposo (en forma del complejo ácidos grasos-albúmina) está bajo el control de varias hormonas particularmente epinefrina y de los carbohidratos (*Nutrition Reviews* 20, 154 (1962)). Así, en un individuo normal con una dieta alta en carbohidratos la movilización de grasa, a partir del tejido adiposo es inhibida probablemente como resultado de la esterificación de ácidos grasos con alfa-gliceril fosfato derivado del metabolismo de los carbohidratos en el tejido adiposo, lo que trae como consecuencia una disminución en la oxidación de los ácidos grasos. En períodos de ayuno, en una dieta alta en grasa, o en diabetes, este tipo de control se pierde y hay una movilización mayor y, por consecuencia, una oxidación aumentada de ácidos grasos.

El mecanismo de biosíntesis de los ácidos grasos ha sido recientemente dilucidado en los laboratorios de F.J. Wakil, Lynen y otros (*Nutrition Reviews* 21, 155 (1963)). Este comprende como primer paso la carboxilación de la acetil-coenzima A a malonil-coenzima A, que es la unidad primordial y fundamental de todo el proceso, reacción que requiere la presencia de biotina como coenzima (*Nutrition Reviews* 17, 59 (1959); 20, 143 (1962)).

La condensación repetida de estas unidades ligadas a una proteína transportadora, resulta en la formación de ácidos grasos de cadena larga. La biosíntesis de ácidos grasos también está bajo el control de varios factores incluyendo la dieta. Una dieta alta en carbohidratos estimulará la síntesis de ácidos grasos pues proveerá citrato el cual es un estimulador directo de la carboxilasa de la acetil-coenzima A, y fuente de acetil-CoA extramitocondrial, del poder reductor extramitocondrial en forma de TNPH (particularmente a partir de la enzima málica), y del alfa-gliceril fosfato para la formación de glicéridos a partir de ácidos grasos (*Ibid.* 21, 247 (1963); 22, 268 (1964)). Estados de ayuno, diabetes y dietas con alto contenido en grasas disminuyen la biosíntesis de ácidos grasos, en parte, por inhibición directa de la carboxilasa de la acetil-coenzima A por compuestos del tipo acil-CoA de cadena larga.

La acil-CoA así formada puede ser incorporada a fosfolípidos o triglicéridos particularmente durante períodos de alta ingesta de energía y depositarse en el tejido adiposo.

Así pues, está haciéndose evidente que el metabolismo energético, especialmente relacionado a los carbohidratos y las grasas, se lleva a cabo por una serie compleja de reacciones interrelacionadas bajo control de muchos factores, particularmente dietéticos, pero que incluyen también hormonales y nerviosos. A medida que nuestro conocimiento de estas reacciones y de sus mecanismos de regulación aumente estaremos en una mejor posición para entender el proceso normal y las enfermedades en que el metabolismo de estos elementos se ve implicado.

CAPITULO V

CORRECCION DEL DEFICIT NITROGENADO EN PACIENTES QUIRURGICOS MANTENIDOS POR ALIMENTACION ENDOVENOSA

Stanley Levey, Ph.D

Son numerosos los casos de pacientes que no pueden tomar alimentos por boca, ya sea por incapacidad de ingerirlos o de retenerlos o porque, por prescripción médica, se les suspende toda alimentación oral para permitir al tracto digestivo permanecer en reposo. No obstante que su ingesta de nutrientes se reduce en estos casos a cero, los requerimientos diarios de estas sustancias continúan siendo normales y pueden incluso, estar aumentados. Los pacientes aún necesitan ingerir agua, electrolitos, calorías y fuentes de nitrógeno; de lo contrario, desarrollarían progresivamente deficiencias nutricionales. La administración endovenosa de soluciones de electrolitos y de glucosa se utiliza comúnmente para reducir las deficiencias de agua y de electrolitos. Para prevenir el desarrollo de deficiencias de nitrógeno en los pacientes, es necesario proveerles de todos los componentes requeridos para la formación de tejidos. Estos incluyen cantidades adecuadas de calorías, de electrolitos, de agua y de todos los aminoácidos y vitaminas necesarios.

Los hidrolizados de proteínas nutricionalmente adecuadas, constituyen una buena fuente de nitrógeno utilizable. Cuando se preparan estos compuestos en soluciones de hexosa al 10% proveen alrededor de 550 calorías por litro, incluyendo las calorías provenientes de los compuestos nitrogenados. Dos litros de soluciones de esta naturaleza proveen el equivalente de 75 g de proteína y alrededor de 1100 calorías por día. Si se aumenta el aporte calórico por la administración de mayores cantidades de líquidos, se aumenta también el peligro de sobrecargar el organismo con agua. El desarrollo de emulsiones de grasa que pueden ser administradas endovenosamente, permite la administración de cantidades mayores de calorías sin tener que dar una cantidad excesiva de líquidos. Estas emulsiones proveen alrededor de 1.5 calorías por centímetro cúbico.

Durante un período de varios años, W. E. Abbott y colaboradores (W.D. Holden, H. Krieger, S. Levey y Abbott, *Ann. Surg.* 146, 563 (1957); Abbott, Levey, y Krieger, *Metabolism* 8, 847 (1959); Abbott y K. Albertsen, *Nutritio et Dieta* 5, 339 (1963)), han llevado a cabo estudios que indican que el déficit de nitrógeno que ocurre después de procedimientos quirúrgicos no complicados, es principalmente el resultado de una disminución de la ingestión de nitrógeno y calorías y que, un mantenimiento adecuado de los pacientes desde el punto de vista nutricional, en el período post-operativo inmediato, puede reducir al mínimo y en algunos casos eliminar completamente estas deficiencias.

La magnitud del déficit de nitrógeno en pacientes que son mantenidos con ingestas nutricionalmente insuficientes después de procedimientos quirúrgicos, está relacionada a la severidad de la operación quirúrgica. En general, este déficit es mayor después de operaciones quirúrgicas serias que después de operaciones de cirugía menor. Por esta razón, Krieger, Abbott, Levey y Holden (*Gastroenterology* 33, 807 (1957)), estudiaron el efecto de distintos niveles de alimentación endovenosa en una serie de pacientes masculinos que fueron sometidos a una

operación de cirugía mayor; gastrectomía sub-total. Se mantuvo a los pacientes en los diferentes regímenes el día de la operación y los cuatro días siguientes; calculando en ellos el balance de nitrógeno para ese período. El Grupo Uno consistió en diez pacientes que recibieron endovenosamente soluciones que contenían electrolitos y 10% de carbohidratos. En esta forma un hombre de 70 kilos recibe alrededor de 900 calorías por día. Con este aporte nutricional, el déficit promedio de nitrógeno para el período de cinco días fue de 57.9 gramos, o sea, un déficit promedio diario de 11.6 gramos.

El Grupo Dos consistió en pacientes que recibieron un aporte moderado de calorías (promedio 23 kilocalorías por kilo por día) y de nitrógeno (promedio 0.17 gramos por kilo por día). La alimentación endovenosa consistió en soluciones de aminoácidos y hexosa, con el agregado de los electrolitos necesarios. El déficit promedio de nitrógeno en cinco días para este grupo de pacientes, fue de 38.2 gramos o sea, un promedio diario de déficit nitrogenado de 7.6 gramos. Por lo tanto, la administración de nitrógeno y de una cantidad modesta de calorías (1610 calorías para un hombre de 70 kilos) redujo el déficit de nitrógeno en aproximadamente un tercio, en comparación con el que se observó en los pacientes que estaban en dieta libre de nitrógeno.

El Tercer Grupo consistió en diez pacientes que recibieron un aporte calórico y de nitrógeno adecuado (38 calorías y 0.28 gramos de nitrógeno por kilogramo por día). El aumento de aporte calórico se logró usando una emulsión de grasa además de hexosa e hidrolizado de proteína. Para un hombre de 70 kilos, ésto representa 19.6 gramos de nitrógeno y 2,450 calorías por día. El déficit de nitrógeno en cinco días para este grupo fue de 7.3 gramos, o sea un déficit promedio diario de 1.5 gramos. Esta serie de estudios indica que la administración de cantidades adecuadas de calorías más nitrógeno a un paciente que es sometido a cirugía mayor, disminuye el déficit de nitrógeno. Además, la pérdida de peso corporal para el último grupo de pacientes fue pequeña, aproximadamente de una libra durante los cinco días, en comparación con cifras de siete a nueve libras para los pacientes que recibieron solo hexosa y electrolitos.

Recientemente L. B. Wadstrom y P. E. Wirklund (*Acta Chir. Scandinav.*, Suppl. 325, 50 (1964)) informaron también sobre el efecto de suplementación calórica en el balance de nitrógeno de pacientes que fueron sometidos a una colecistectomía no complicada. Los pacientes fueron mantenidos con alimentación endovenosa durante las 48 horas del período de estudio que comenzó a las 8 a.m. el día de la operación. Se estudiaron tres grupos de pacientes mujeres. El Grupo Uno consistió en diez pacientes que recibieron 10 calorías por kilogramo por día en forma de soluciones de carbohidrato sin nitrógeno. El déficit post-operativo de nitrógeno en dos días para este grupo fue de 11.9 gramos. El segundo grupo consistió en nueve pacientes, cada uno recibió diariamente 10 calorías y 0.1 gramos de nitrógeno por kilogramo. El aporte calórico total incluyó tanto las calorías provenientes de carbohidrato, como las provenientes de los compuestos nitrogenados. Estos pacientes mostraron un déficit promedio en 48 horas de 4.8 gramos de nitrógeno. El tercer grupo consistió de nueve pacientes que recibieron 35 calorías y 0.1 gramos de nitrógeno por kilo por día. El aporte calórico promedio para este grupo fue de 2,200 calorías por día, las que provinieron de carbohidrato, aminoácidos y de una emulsión de grasa. La grasa fue administrada a un nivel de un gramo por kilo. El déficit promedio de nitrógeno en 48 horas para estos pacientes del Grupo Tres, fue de 1.2 gramos o sea 0.6 gramos por día, indicando que estaban muy cerca del balance a pesar del procedimiento quirúrgico. Dos de los nueve pacientes mostraron un balance positivo de nitrógeno durante el período.

Ambas series de estudios indican que el déficit de nitrógeno que ocurre en pacientes que han sido sometidos a operaciones quirúrgicas no complicadas, puede deberse en gran parte, a

un aporte nutricional insuficiente. Los pacientes que reciben únicamente soluciones de carbohidratos con o sin electrolitos, desarrollan déficits de nitrógeno puesto que el aporte de proteínas o aminoácidos es nulo. Los que reciben hidrolizados de proteína al mismo tiempo que carbohidratos, tienen un déficit de nitrógeno menor, pero generalmente, no pueden recibir suficientes calorías para reducir este déficit de nitrógeno a un mínimo. Aún cuando es posible administrar cantidades adecuadas de nitrógeno por vía endovenosa sin sobrecargar al paciente con líquidos, es mucho más difícil proveer en esta forma suficientes calorías. Ahora que ya hay disponibles emulsiones de grasa que pueden ser administradas por vía endovenosa, es posible administrar parenteralmente, aportes nutricionalmente completos, incluyendo vitaminas, nitrógeno, calorías, electrolitos y elementos traza.

Aún cuando es posible reducir a un mínimo, o aún eliminar en algunos casos, el déficit de nitrógeno y la pérdida de peso que ocurren en pacientes post-operativos, no parece haber convencimiento general de que ésto sea beneficioso en pacientes no-debilitados. Sin embargo, P. R. Cannon (*Some Pathologic Consequences of Protein and Amino Acid Deficiencies*. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, 1948), ha documentado el aumento en la incidencia de complicaciones que ocurre en pacientes que tienen un déficit proteico. Estos estudios sugerirían, por lo tanto, que la administración de una alimentación adecuada por vía parenteral en pacientes post-operativos, es un complemento valioso para el éxito quirúrgico.

CAPITULO VI

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE EMULSIONES DE GRASA
ADMINISTRADAS INTRAVENOSAMENTE

Por Richard J. Jones, M.D.

Por muchos años se ha observado que la alimentación por la vía intravenosa o parenteral nunca podía ser completa si no se incluía grasa en la infusión. Sin el alto valor calórico de la grasa es prácticamente imposible proporcionar al paciente suficiente calorías que le permitan tener un balance de nitrógeno positivo. Debido a que la grasa emulsificada no ejerce ningún efecto osmótico, su concentración puede ser aumentada a un 15 a 20% de la infusión sin correr el riesgo de llegar a una tromboflebitis química inducida por solutos concentrados.

El quilo homólogo obtenido de pacientes sanos ofrece un medio para esa terapia, pero es un procedimiento prácticamente imposible. El plasma lipémico o la leche de la madre han sido utilizados intravenosamente sin haber obtenido serios efectos secundarios, pero el contenido calórico de tal material es mucho menor del que puede ser obtenido por medio de emulsiones artificiales de grasa. Sin embargo, con el uso de emulsiones de aceite vegetal se han presentado frecuentemente efectos tóxicos agudos que no han permitido su uso sino hasta hace solamente nueve años (*Nutrition Reviews* 16, 164 (1958)). Con el objeto de cubrir adecuadamente este tema se recomienda la lectura de una excelente revisión publicada por R.P. Geyer (*Physiol. Rev.* 40, 150 (1960)), de un coloquio sobre alimentación intravenosa realizado en Londres en 1962 (*Nutritio et Dieta* 5, 295 (1963)) y de un simposio sobre emulsiones de grasa administradas intravenosamente publicado recientemente en un número de la revista *Am. J. Clin. Nutrition* (16, 1 (1965)).

La emulsión de grasa, considerada como ideal para uso por la vía intravenosa, debiera parecerse al quilo natural en su contenido de partículas de lípidos, de unas pocas micras de diámetro, los cuales se encuentran en una suspensión estable, estéril y capaz de su utilización metabólica completa. Esta deberá mantener todas estas características durante un período largo de tiempo con el objeto de que su transporte y su almacenamiento no la alteren hasta cuando éstas sean utilizadas. Por último, es obvio que ésta no deberá ser tóxica. Actualmente la mayoría de las emulsiones pueden hacerse con emulsificantes apropiados para obtener partículas de grasa menores de 1μ de diámetro en forma de emulsión estable y estéril.

La búsqueda de fosfolípidos no tóxicos y de otros emulsificantes ha sido bastante completa y actualmente ya se han establecido condiciones adecuadas para su preparación y almacenamiento. La alta incidencia de reacciones tóxicas agudas ha disminuído drásticamente: aunque todavía no han sido eliminadas o reducidas a una cifra sin importancia, los efectos secundarios que se continúan presentando no son severos. El principal elemento disuasivo al uso más frecuente de esta forma de alimentación, por períodos prolongados, son los efectos secundarios que aparecen después de la administración de una serie de cinco o más infusiones diarias que pueden relacionarse, en parte, a la acumulación en ciertas células de un pigmento no digerible.

Triglicéridos de cadenas cortas, tales como tributirina y trinorvalerina inducen cambios agudos en el ritmo del pulso, la presión arterial y la respiración. La trivalerina produce un efecto

negativo inotrópico sobre el corazón e induce vasodilatación. Los triglicéridos de cadenas más largas, sin embargo, evitan estas dificultades hasta cierto punto, siempre que se use un agente emulsificante adecuado. Un avance importante en la preparación de emulsiones inocuas fue la demostración de que los fosfátidos del frijol de soya, utilizados como agentes emulsificantes, fueron capaces únicamente de inducir cambios en la presión arterial cuando habían sido oxidados por medio de exposición al aire (Geyer, D.M. Watkin, L.W. Matthews y F.J. Stare, *J. Lab. Clin. Med.* 34, 688 (1949)).

Experiencias adicionales realizadas por estos agentes emulsificantes han hecho énfasis sobre la importancia de un fraccionamiento cuidadoso de los fosfátidos del frijol de soya con el objeto de remover fracciones farmacológicamente activas, si se desea reducir al mínimo los efectos tóxicos agudos. Parece ser que los fosfátidos del huevo necesitan menos purificación (O. Schuberth y K.A. Wretling, *Acta Chir. Scandinav. Suppl.* 278, 1 (1961)). Las "reacciones coloidales" caracterizadas por dolores en la espalda y en el pecho acompañadas de disnea y cianosis, que eran comunes con las primeras preparaciones, han sido eliminadas, presumiéndose que ésto es debido al uso de las grasas altamente purificadas que se usan hoy en día en las emulsiones.

Entre los efectos agudos que todavía se observan se puede incluir la fiebre, generalmente baja, enrojecimiento de la piel y, ocasionalmente, hipotensión. La razón por la cual se presenta la fiebre es aún desconocida. Se ha argumentado que ésta no se debe a los pirógenos bacterianos o químicos que molestaron en los primeros intentos con otras formas de terapia intravenosa. Aún cuando es el efecto secundario más frecuente, la fiebre se ha vuelto menos severa con las últimas preparaciones que contienen ingredientes más purificados.

Los siguientes efectos circulatorios adicionales se atribuyen a cambios en la microcirculación: alteraciones en la forma de los eritrocitos, adherencia de granulocitos al endotelio capilar, y el paso más lento de la circulación capilar observados en la cámara del oído de conejos (P.I. Bronemark y J. Lindström, *Circulation Res.* 15, 124 (1964)). Estos investigadores no notaron el agregado poco usual de eritrocitos o "sludging" de la sangre que había sido observado previamente por A.V. Williams, A.C. Higgenbotham y M.H. Knisely (*Angiology* 8, 29 (1957)). De cualquier manera, una tensión disminuida del oxígeno en el miocardio y en los tejidos periféricos ha sido demostrada por varios investigadores durante la presencia de hiperlipemia. (C.R. Joyner, O. Horwitz y P.G. Williams, *Circulation* 22, 901 (1960); T.J. Regan y colaboradores, *Ibid.* 23, 55 (1961)).

Los efectos indeseables tardíos observados después de la administración repetida de infusiones, son más frecuentes y menos entendidos y, por lo tanto, un mayor obstáculo para el uso más amplio de estos agentes. Estos efectos, sin embargo, dependen en gran escala de la dosis y el tipo de la emulsión de grasa utilizada. Aún cuando se han estudiado muchas otras combinaciones, hay principalmente dos que han llegado a la etapa de disponibilidad comercial: una emulsión de 15% de aceite de semilla de algodón en la que se emplea un 1.2% de lecitina proveniente de soya y un 0.3% de polioxietileneoxipropileno como agentes emulsificantes, la cual se encuentra disponible en los Estados Unidos; y otra emulsión que contiene 20% de aceite de soya en la cual se emplean como agentes emulsificantes lecitina de huevo y glicerol, la cual es fabricada en Suecia. El análisis de materiales traza en éstas y muchas nuevas combinaciones puede permitir mayor comprensión de algunos de los efectos más prolongados de las infusiones de lípidos (A. Rose, N. Pelick, F.M. Angeloni y M.E. Miller, *Am. J. Clin. Nutrition* 16, 4 (1965)).

Estos efectos, que aparecen después de varias infusiones diarias de 2.0 g de grasa por kilogramo por día, incluyen el desarrollo de anemia normocrómica, normocítica (probablemente

hemolítica), de leucocitosis, diatesis hemorrágica, alteraciones en los patrones de proteínas séricas, disturbios en el funcionamiento del hígado - ocasionalmente al punto de ictericia, ulceración péptica del estómago y del duodeno, y otros trastornos gastrointestinales menos específicos. El "síndrome de sobrecarga" ("overloading syndrome"), se caracteriza por fiebre, dolor de cabeza, hiperirritabilidad y por alguno o todos los síntomas antes mencionados, a menudo con una hiperlipemia persistente. Estos últimos síntomas han sido descritos con menor frecuencia, y menor severidad, cuando se utiliza la emulsión que contiene aceite de soya que cuando se usa la que contiene aceite de algodón.

Al comparar estas dos emulsiones con nuevas emulsiones de experimentación que fueron administradas diariamente y en cantidades grandes a grupos de perros, A.R. Vela y colaboradores (*Am. J. Clin. Nutrition* 16, 80 (1965)) mostraron que una emulsión con 15% de aceite de algodón y monoglicérido de polietilen-glicol u otros emulsificantes purificados, podía ser administrada a perros por un período de seis semanas sin que se presentaran aparentemente efectos adversos. Sin embargo, en los seres humanos se presentaron varias reacciones agudas pero leves en 6 de 8 pacientes carcinomatosos estudiados. Por lo tanto, se concluyó que todavía no se había desarrollado ninguna emulsión verdaderamente inocua.

De mayor interés es la, aparentemente inevitable, implicación del hígado y del sistema retículoendotelial en todos los animales que recibieron repetidas infusiones intravenosas de emulsión grasosa. Estudios microscópicos de los órganos de tales animales revelan la presencia de un "pigmento" atribuido a la grasa intravenosa en las células de Küpffer, en células hepáticas y en las células retículoendoteliales del bazo (C.E. Meyer, J.A. Fancher, P.E. Schurr y H.D. Webster, *Metabolism* 6, 591 (1957)). Este material intracitoplásmico es sudanofílico, anisotrópico, fluorescente, negativo al hierro y, por lo tanto, parece ser algún tipo de pigmento complejo lipoideo.

Este complejo frecuentemente se encuentra asociado con múltiples fibrogranulomas lipoideos que se desarrollan en el hígado y en el bazo de estos animales. No siempre se pueden observar con el microscopio corriente después de la administración de la emulsión de aceite de soya, pero el microscopio electrónico los revela en todos los animales tratados. Aparecen con mucho menor frecuencia e intensidad después de la administración de una infusión de aceite de soya que después de la administración de una infusión de aceite de semilla de algodón o de otras similares. Su cantidad varía con la dosis, así como con el tipo de material empleado en la infusión, pero tiene poca relación con las manifestaciones tóxicas agudas, el tipo de emulsificante utilizado o el tamaño de las partículas de grasa. Estos no se presentan cuando las emulsiones son administradas oralmente por lo que es probable que sean causados por algún material traza que no es absorbido por el tracto gastro intestinal (tal vez gosipol, un pigmento liposoluble hepatotóxico y fenólico en la semilla de algodón), o por la formación de algún agregado de proteínas y lípidos o, más bien, un complejo lípido oxidado que es ingerido pero metabolizado pobremente por estas células. El complejo de pigmento no desaparece con el tiempo, pero los gránulos del pigmento se vuelven más grandes, persistiendo por lo menos por 18 meses y probablemente por el resto de la vida del animal (S.W. Thompson et al., *Am. J. Clin. Nutrition* 16, 43 (1965)).

Aún después de la administración de emulsiones de aceite de soya se observan regularmente cambios ultraestructurales en las organelas celulares (H. Sasaki, F. Schaffner, Thompson y R.D. Hunt, *Ibid.* 16, 37 (1965)). Los gránulos de pigmento, aún cuando son pequeños, se encuentran asociados con lugares en la célula en los que hay actividad de fosfatasa alcalina, y después de transcurrido un mes pueden observarse que han aumentado en tamaño y que a veces se encuentran rodeados de una membrana. Además ocurre una distorsión y dilatación del retículo endoplásmico granular con pérdida parcial de los ribosomas e hipertrofia del aparato de Golgi.

A pesar de que estos hallazgos se asemejan a las anomalías observadas en la estructura fina del hígado causadas por deficiencia de colina, la suplementación con esta vitamina no parece prevenir su desarrollo. Mientras que los cambios parecen no reflejar serios daños en la función del hígado y pueden no ser considerados como suficiente razón para rechazar cualquier uso de emulsiones intravenosas de grasa, no se puede asumir su inocuidad ya que persisten durante el resto de la vida del animal de experimentación.

Se ha descrito un elemento en el plasma de algunos pacientes que rompe la emulsión y permite la formación *in vitro* de jabones insolubles de calcio. Este no ha sido definitivamente relacionado con los síntomas o hallazgos patológicos mencionados anteriormente. H. LeVeen, P. Giordano y A. Johnson (*Am. J. Clin. Nutrition* 16, 129 (1965)) han estudiado este fenómeno, el cual no aparece en el suero normal, y presentan evidencia que sugiere que éste es debido a una globulina sérica. Ochenta y cinco por ciento de los pacientes con una elevada sedimentación de eritrocitos tenían este elemento en el plasma. Hasta la fecha no se han encontrado medios satisfactorios para corregir esta tendencia. Debe enfatizarse que la importancia de este elemento en casos *in vivo* queda por ser establecida.

En lo concerniente a la utilización de la grasa intravascular, los estudios realizados sobre su desaparición de la sangre de pacientes han sugerido por lo menos dos componentes exponenciales; uno de los cuales es tan rápido como para sugerir fagocitosis retículo endotelial de una fracción substancial del material, y el otro sigue una curva de "presa" más lenta que ha sido atribuida al hígado. Estudios en animales han revelado una presa rápida inicial de emulsiones de grasas marcadas por el bazo, hígado y pulmones, encontrándose más del 25% en estos órganos después de una hora. Hay bastante evidencia, sin embargo, que demuestra que emulsiones artificiales de grasa son metabolizadas tan eficientemente como las preparaciones administradas oralmente. En efecto, estudios de las partículas de grasa presentes al final de una infusión de una emulsión de aceite de semilla de algodón, y cuatro horas después, muestran que estos quilomicrones artificiales tienen casi las mismas proporciones de proteínas, colesterol y fosfolípidos como los quilomicrones que se presentan naturalmente después de una comida grasosa.

En conclusión, debe decirse que las emulsiones artificiales de grasa todavía no han sido perfeccionadas al punto que puedan ser recomendadas para uso generalizado en pacientes que requieren una nutrición parenteral temporal. Por otra parte, el continuo mejoramiento, durante los últimos 20 años, en la purificación de los aceites y de los emulsificantes usados ha reducido la incidencia e intensidad de los efectos secundarios, por lo que existe razón para creer que este mejor conocimiento pueda pronto conducir a la eliminación total de estos efectos indeseables. El problema planteado por la persistencia de cambios intracelulares que aparecen después de una infusión de cualquiera de las emulsiones estudiadas hasta la fecha es aún arduo. Una nota de optimismo es el hecho de que estos efectos difieren entre las diversas preparaciones, lo cual sugiere que podrían prepararse emulsiones libres de estos efectos indeseables.

CAPITULO VII

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE LA ACCION DINAMICA ESPECIFICA

Wendell, H., Griffith, Ph.D. y Helen M. Dyer, Ph.D.

La acción dinámica específica (ADE) se discutió brevemente en 1946 en el capítulo "Conocimientos actuales sobre calorías en nutrición humana" (*Nutrition Reviews* 4, 34 (1946)). Al año siguiente aparecieron en la literatura nuevos datos originales y discusiones críticas sobre los mecanismos de la ADE, con referencia especial al efecto de las vitaminas, las enzimas y las hormonas (*Research Bulletin* 404-418, February 1947 - May 1948, University of Missouri, College of Agriculture, Columbia, Missouri). En 1962, H.H. Mitchell dedicó dos secciones de su libro (*Comparative Nutrition of Man and Domestic Animals*, Vol. II Academic Press, New York, 1962) a la discusión del conocimiento pasado y presente de los factores que afectan la disponibilidad neta de la energía accesible metabolizable y a las causas de la ADE de los alimentos.

El concepto clásico de ADE de los alimentos (M. Rubner, *Die Gesetze des Energieverbrauchs bei der Ernährung*, Leipzig, 1902) es aparentemente cierto cualitativamente, y también desde el punto de vista cuantitativo, cuando cada tipo de alimento se administra individualmente a un sujeto en ayunas y en reposo. La magnitud de la ADE depende de, 1) la cantidad del nutriente consumido, 2) el metabolismo basal del sujeto y 3) el estado nutricional del sujeto. Los valores cuantitativos de la ADE cambian si el alimento se administra separadamente, como proteína, carbohidrato o grasa, a un sujeto en reposo que está consumiendo una dieta que llene sus requerimientos calóricos o que provee un exceso de calorías. Cuando se administra una dieta mixta a ratas, la ADE es cuantitativamente mucho menor que la suma de las ADE de los componentes individuales de esa dieta (E.B. Forbes y R.W. Swift, *J. Nutrition* 27, 453 (1944)). Se cree que la importancia de la ADE en la producción total de calor ha sido exagerada excepto en el caso de los rumiantes, en el cual el efecto es importante. Sin embargo, el uso de rumiantes para las investigaciones sobre ADE ha sido criticado por muchas razones, incluyendo la presencia de parásitos en el alimento y las diferencias entre la cantidad de alimento ingerida y la cantidad utilizada.

En nutrición humana se conoce poco sobre la ADE de dietas mixtas. Las determinaciones de ADE se han visto restringidas a adultos y se refieren generalmente, a las calorías en exceso producidas sobre el gasto calórico basal. Se han llevado a cabo relativamente pocos estudios sobre la medida de la ADE en los cuales la comida ingerida sea bien descrita y además muy pocos trabajos extienden las observaciones por períodos de suficiente duración. En estudios humanos se ha observado que un alto contenido de proteínas como parte de una dieta mixta, no sobrecarga los mecanismos de disipación de calor del organismo (N. Glickman, H.H. Mitchell, E.H. Lambert y R.W. Keeton, *J. Nutrition* 36, 41 (1948)). La cantidad de alimento ingerido es más importante en la producción de calor que la ADE de los componentes de la dieta. Este efecto está relacionado al nivel previo de nutrición. Después de ayuno o inanición, la ADE relativa de los alimentos es marcadamente menor (A. Keys *et al.* *The Biology of Human Starvation*, University of Minnesota Press, Minneapolis, 1950).

Las investigaciones iniciales sugirieron que la ADE o "energía desperdiciada" tiene su origen en tantas diferentes reacciones de los alimentos en el organismo que es prácticamente

imposible identificar individualmente las fuentes de cada una de estas pequeñas fracciones de energía. La digestión y la absorción se consideran parcialmente causantes de la ADE, pero el metabolismo de los productos absorbidos parece ser la fuente principal de la energía liberada como ADE.

Otros aspectos de la ADE han sido considerados recientemente. La hipótesis de J. R. Brobeck (*Proceedings of the Twentieth International Congress of Physiology*, p. 133, 1956; *Rec. Prog. Hormone Res.* 16, 439 (1960)) que relaciona el mecanismo de la saciedad, provocado por la ingestión de alimentos, a la sensibilidad del hipotálamo ha sido confirmada (R. Passmore y F.J. Ritchie, *Brit. J. Nutrition* 11, 79 (1957)). Este mecanismo parece involucrar la sensibilidad del hipotálamo al calor producido por la ADE de los alimentos. Un experimento con cabros demostró una relación entre las áreas termo-reguladoras y los centros hipotalámicos reguladores de la ingesta de alimentos, lo que constituye evidencia en favor de la teoría de que la ADE de los alimentos actúa para provocar vaso-dilatación cutánea, inhibición del apetito, e inducción de la sensación de saciedad (*Nutrition Reviews* 20, 26 (1962)). Serían muy útiles nuevos estudios ejecutados bajo condiciones normales de ingesta alimenticia, en que se registraran los cambios de temperatura en las áreas preópticas y superiores del hipotálamo.

La repetición de una de las fases de la investigación del trabajo clásico de Rubner sobre la ADE demostró que, el aumento en la producción de calor asociada a la ingestión de una comida de 1000 kilocalorías (40% de las cuales provenían de proteínas) y aumento asociado con la exposición al frío mostró acumulación cuando los sujetos eran alimentados mientras descansaban en un ambiente frío (E.R. Buskirk, R.H. Thompson, R. Moore y G.D. Whedon, *Am. J. Clin. Nutrition* 8, 602 (1960)). J.S. Hart (*Transactions of the Sixth Conference on Cold Injury*, S.M. Horvath, Editor, p. 271. Josiah Macy, Jr. Foundation, New York, 1960), ha discutido el problema de la equivalencia de ADE entre la termogénesis por ejercicio y termogénesis por frío. La combustión de substratos energéticos para mantener la temperatura corporal durante la exposición al frío, es un proceso esencial que involucra trabajo muscular en la forma de tiriteo y también un mecanismo de termogénesis "no relacionado al tiriteo". No se sabe si la fuente de calor en esta última modalidad de termogénesis involucra alguna de las reacciones responsables de la ADE.

La ADE ha sido considerada ocasionalmente como un método de regulación del peso corporal. Las dietas ricas en proteínas han sido recomendadas para este propósito. En ratas en crecimiento, la producción total de calor, calculada en base a la diferencia entre la ingesta calórica y la suma de las pérdidas fecales y urinarias más la ganancia en peso, era mínima cuando la dieta contenía entre 25 y 41% de proteína pero aumentaba cuando el contenido proteico de la dieta era mayor o menor (E.W. Hartsook y T.V. Hershberger, *J. Nutrition* 81, 209 (1963)). Estos datos sugerían que la tendencia de las ratas a disminuir moderadamente la producción total de calor como consecuencia de aumentos en la ingesta proteica se invertía, cuando las concentraciones de proteína en la dieta eran más altas que el nivel óptimo para máxima ganancia de energía. Estas conclusiones fueron criticadas debido a que se asumió que las diferencias computadas en la producción de calor, entre los grupos de animales con distinta ingesta proteica se podían atribuir más lógicamente a variaciones en ADE que a variaciones en la actividad física de las ratas (*Nutrition Reviews* 22, 156 (1964)). Dos informes previos habían indicado que la ADE de dietas con concentraciones variadas de extracto seco de huevo íntegro disminuía al aumentar el contenido de proteína hasta que éste alcanzaba el 18%; luego la ADE se mantenía constante entre 18 y 30% pero seguía aumentando cuando el contenido proteico era de 42% o más (T.S. Hamilton, *J. Nutrition* 17, 565, 583 (1939)). De ahí el autor concluyó que el valor energético neto más alto de las dietas bien balanceadas, comparadas con dietas imbalances ya sea por exceso o defecto en proteína, se debía, casi en su totalidad, al menor incremento en producción de calor de las dietas bien balanceadas.

En ratas destetadas se logró el mantenimiento del peso administrando muy variadas ingestas calóricas (D.S. Miller y R.R. Payne, *J. Nutrition* 78, 255 (1962)). Dos cerdos jóvenes también se mantuvieron en un peso constante con dietas que proveían, respectivamente 243 y 1180 calorías por día. La dieta base (pobre en calorías) se mezcló con cantidades adicionales de carbohidratos para proveer los incrementos calóricos, por lo que los contenidos de nitrógeno eran de 4.1 y 0.41% respectivamente. Después de 40 días los regímenes se invirtieron y el peso se mantuvo por un período similar. Estos resultados sorprendentes no pudieron atribuirse a diferencias en digestibilidad, pérdidas en la orina, depósito de tejido adiposo, o actividad física. Las diferencias en el anhídrido carbónico expirado mostraban que toda la comida ingerida estaba siendo metabolizada. Se concluyó que la energía alimenticia puede ser convertida directamente a calor. La producción directa de calor a partir de grasa y de carbohidratos interferiría seriamente con la evaluación de ADE de las proteínas en dietas mixtas, indicando que la razón entre proteínas y calorías así como la ingesta calórica deben de ser tomadas en consideración (Miller y Payne, *Brit. J. Nutrition* 15, 11 (1961)).

La reconsideración de las observaciones relacionadas con la ADE ha dado origen a dos nuevos conceptos para explicar este fenómeno: 1) La ADE es el resultado de un imbalance en la dieta o de una deficiencia dietética y 2) La ADE es el resultado de un desperdicio de energía de los alimentos debido al metabolismo de compuestos ricos en energía para formar compuestos de menor contenido energético. La segunda teoría implica la conversión a formas de depósito de metabolitos que se encuentran en cantidades por encima de las necesidades corporales, tal como la conversión de glucosa a glicerol y a ácidos grasos en lipogénesis y a síntesis de péptidos a partir de aminoácidos. Evidencia que confirma la teoría de que el calor desperdiciado de los alimentos se debe a una deficiencia o imbalance en los componentes de la dieta, puede obtenerse del análisis de la mayoría de los experimentos en los cuales ha sido medida la ADE de las comidas de prueba.

En relación al segundo concepto, la energía libre de conversión de alimentos a productos de depósito debe provenir de los procesos metabólicos que prosiguen en el organismo. Una aproximación del costo de conversión de aminoácidos a proteínas indicó que la oxidación completa de una molécula de glucosa a anhídrido carbónico y agua líquida da origen a aproximadamente 700,000 calorías de energía libre, cantidad de suficiente magnitud para incorporar a proteína aproximadamente 100 residuos de aminoácidos (J.A.V. Butler, *Nature* 158, 153 (1946)). La acción dinámica específica ha sido considerada desde el punto de vista de la segunda y tercera ley de termodinámica (E.T. Adams, *J. Biol. Chem.* 67, XXI-XXII (1926)). La producción de calor "de desperdicio" se eleva siempre que existe un desacoplamiento de la fosforilación oxidativa con las oxidaciones en la cadena de transporte de electrones. Esta falta de acoplamiento despoja al organismo de su principal proceso de enriquecimiento energético, aquel que da origen a ATP (P. Oesper, en *Phosphorus Metabolism*, W.D. McElroy y B. Glass, Editores, Vol. I p. 523. Johns Hopkins Press, Baltimore, 1951). Aún constituyentes normales del organismo tales como la tiroxina y el calcio, tienen la facultad de producir este desacoplamiento. Sin embargo, no se conoce si en condiciones usuales esta falta de acoplamiento resulta o no en una pérdida significativa de energía que se desperdicia en forma de calor.

Los dos nuevos conceptos para explicar la causa de la ADE, esencialmente que ésta es causada por dietas deficientes o imbalances o que ésta se debe a la pérdida de energía en la conversión de productos de digestión de alto contenido energético a metabolitos de bajo contenido energético, necesitan mayor investigación. De especial interés es la explicación de la incapacidad de muchos individuos de depositar grasa o ganar peso corporal a pesar de consumir

dietas que proveen más allá de sus necesidades calóricas. Otra pregunta que puede ser objeto de valiosos estudios es sí la energía que representa el metabolismo basal es análoga a la definida como ADE, es decir, una forma de transferencia de energía que tampoco puede ser utilizada para producir trabajo.

CAPITULO VIII

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE EL PIGMENTO CEROIDE

W. Stanley Hartroft, M.D., Ph.D. y E.A. Porta, M.D.

Durante la última década y aún con anterioridad, se han publicado informes de varios laboratorios, algunos de los cuales aparentemente no tienen relación alguna con nutrición, los que gradualmente han dado lugar a un buen número de nuevos conceptos fundamentales. Estos están relacionados a la respuesta de una gran variedad de daños en los tejidos en los que los imbalances nutricionales a menudo juegan un papel importante. La anormalidad de que estas condiciones son responsables es la deposición de pigmento ceroide. Este es un material de color ámbar que se observa en secciones histológicas que no han sido coloreadas, no extraíble por los reactivos comúnmente usados (por ejemplo, alcohol, éter de petróleo, acetona, xilol) y que tiene gran afinidad por los colorantes lipofílicos (Sudán, Oil red O, Sudán Black B, tetróxido de osmio). El pigmento es clasificado, por lo general, como lipocromo y es muy similar, si no idéntico, a otros en este grupo, tales como la lipofucsina, hemofucsina, el pigmento del miocardio conocido como "wear-tear" o pigmento de la edad, el pigmento encontrado en el músculo en experimentos de distrofia muscular nutricional y en otras condiciones relacionadas.

El término ceroide que significa "semejante a la cera" fue propuesto por primera vez hace alrededor de un cuarto de siglo, (R.D. Lillie y colaboradores, *Pub. Health Rep.* 57, 502 (1942)) para describir el pigmento no soluble en alcohol o xilol que se presenta en secciones parafinadas de hígados cirróticos de ratas con deficiencia de colina. Este se encontró también en células parenquimatosas, células de Küpffer y en trabéculas fibrosas. En estos últimos se observaba a veces dentro de los macrófagos y en otros casos se encontraba libre entre las bandas de colágeno. Cualquiera que fuera su posición, éste se teñía fuertemente con tintes lipofílicos así como con el reactivo del ácido periódico de Schiff (PAS-positivo) y con una variedad de colorantes basófilos. La reacción PAS-positiva del ceroide ha llevado a veces a interpretar equivocadamente los depósitos de este pigmento como mucopolisacárido, especialmente en estudios de ateroma donde las coloraciones de ceroide se efectúan muy raras veces. El informe de Lillie y colaboradores estimuló el interés de otros patólogos interesados en nutrición y despertó nuevamente el interés morfológico en los lipocromos en general.

Se reconoce actualmente que el pigmento tiene una extensa distribución tanto en animales de experimentación como en el hombre. En una revisión reciente (W.S. Hartroft y E.A. Porta, *Am. J. Med. Sci.* 250, 324 (1965)), se citan informes en los que éste se ha descrito no sólo en hígados de ratas con un amplio espectro de daños dietéticos, sino también en el útero, las glándulas sexuales, el bazo, los ganglios linfáticos y en el tejido adiposo de ratas con deficiencia de vitamina E. También se ha encontrado en el tejido adiposo de pollos deficientes en vitamina E y en el hígado, las glándulas suprarrenales y los testículos de ratones y en el hígado y el bazo del pescado bajo otras condiciones experimentales. Se ha encontrado también en trombosis coronaria de ratas alimentadas con dietas trombogénicas y en los hígados de ratones y ratas alimentados con dietas hepato-necrogénicas utilizadas por H.P. Himsworth y K. Schwarz (Schwarz, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 77, 818 (1951)).

En el hombre, el pigmento ha sido descrito en el hígado, bazo, riñones, suprarrenales, ganglios linfáticos, esófago, estómago, intestino delgado, en arterias de calibre mediano, venas y capilares, en los ovarios, en el útero, vesículas seminales, músculo esquelético, hipófisis y sistema nervioso central. Es también un signo constante y de aparición temprana en aortas ateromatosas de humanos, en arterias coronarias, así como en los trombos que se encuentran obstruyendo a las últimas en casos mortales de infarto del miocardio. En niños se han identificado dos casos de "enfermedad por almacenamiento de ceroides", en los cuales se ha encontrado el pigmento dentro del hígado, bazo, ganglios linfáticos, médula espinal, y la grasa alrededor del timo. Ha sido considerado como el producto final en algunas formas de la enfermedad de Niemann-Pick, encontrándose también en las células retículoendoteliales en la diatesis hemorrágica de los albinos.

El pigmento es prominente en el músculo liso del tracto intestinal en casos de fibrosis quística del páncreas y en atresia biliar así como en pancreatitis crónica y en algunos casos de malabsorción. También se encuentra constantemente en el ovario de humanos donde puede considerarse como un hallazgo normal. Existen por lo menos media docena de informes que mencionan su presencia en las células retículoendoteliales de pacientes a los que se les han administrado intravenosamente emulsiones de grasa. Nosotros hemos encontrado que éste se halla regularmente en la mayoría de los tipos de cirrosis, especialmente en aquellos casos asociados con consumo crónico y excesivo de bebidas alcohólicas. De lo anterior puede deducirse que la formación de ceroides debe representar una reacción fundamental a daño tisular, a juzgar por su presencia en tantos órganos y en tan diversas condiciones.

Consideración de la presencia tan generalizada del pigmento en el hombre revela que aún cuando en algunas de las condiciones en que éste se encuentra puede ser detectado un imbalance nutricional generalizado (por ejemplo, estados de malabsorción), en otras como el ateroma, tal imbalance no es por lo menos tan obvio. Sin embargo, ahora ha surgido un concepto que puede servir como una útil hipótesis de trabajo para explicar su presencia en esa gran variedad de condiciones aparentemente no relacionadas.

El consenso es que el pigmento resulta de la oxidación y peroxidación de grasas no saturadas con la formación de polímeros insolubles de cadenas largas. (K.M. Endicott, *Arch. Path.* 37, 49 (1944); J.D. deOlivera, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 52, 125 (1949-50); G.M. Hass, *Arch. Path.* 26, 1196 (1938); H. Dam y H. Granados, *Science* 103, 327 (1945). Lillie, *Stain Technol.* 27, 37 (1952)). Algunos autores han encontrado proteínas o aminoácidos incorporados dentro del ceroides (deOlivera, *loc. cit.* P. György, *Am. J. Clin. Path.* 14, 67 (1944)), pero en otros casos se han descrito formas relativamente puras conteniendo únicamente lípidos alterados. (Endicott, *loc. cit.*; W.G.R. Casselman, *J. Exp. Med.* 94, 549 (1951)). Probablemente se pueda presentar como una mezcla variable de sustancias (C.S. Lee, *J. Nat. Cancer Inst.* 11, 339 (1950)), pero la grasa no saturada y polimerizada es el constituyente esencial.

Es bastante evidente que el oxígeno por sí mismo y las sustancias que estimulan la oxidación tanto *in vitro* como *in vivo* (Hartroft, *Science* 113, 673 (1951)) pueden iniciar regularmente la polimerización de los lípidos. Los lípidos saturados no se encuentran implicados, y cuanto más grande es el grado de desaturación más rápidamente se forma el ceroides. Casselman (*loc. cit.*) demostró estos principios en una serie de experimentos *in vitro* diseñados muy cuidadosamente. El tocoferol y otros antioxidantes, en una variedad de situaciones, disminuyen la formación del pigmento aún en presencia de depósitos relativamente abundantes de grasa anormal. (A.L. Tappel, *Arch. Biochem. Biophys.* 54, 266 (1955)). Por el contrario, catalistas oxidantes, incluyendo compuestos de hematina, hemoglobina, citocromo-C y hemina favorecen su formación.

La hemoglobina por sí sola es probablemente el catalista más importante para su formación *in vivo* a partir de acumulaciones de lípidos no saturados, como lo han indicado experimentos simples en los que hemorragia dentro de la grasa del epidídimo de ratas normales o dentro de quistes grasos de hígados de ratas deficientes en colina es suficiente para estimular depósitos abundantes de ceroides (Hartroft, *Am. J. Path.* 31, 381 (1955)). Es probable que los glóbulos rojos actúen como catalistas de importancia en la patogénesis de depósitos de ceroides en placas ateromatosas de humanos (Hartroft, *J. Gerontol.* 8, 158 (1953)).

Parece aparente, pues, que el estado general de nutrición del organismo puede jugar un papel importante en la formación o no de depósitos de ceroides en las diferentes partes del cuerpo. Una alta ingesta de grasa altamente no-saturada, o una baja ingesta de vitamina E (y especialmente la presencia simultáneamente de estas dos condiciones) favorecerá su formación, especialmente si se forman depósitos anormales de lípidos en el hígado, músculos u otros órganos. Pero aún en el caso de animales u hombres cuyo estado nutricional sea considerado como esencialmente normal, puede verse que lesiones focales pueden precipitar una condición local que favorece la deposición del pigmento ceroides. Cualquier anomalía resultante de la acumulación de cantidades excesivas de lípidos (generalmente teñibles), casi siempre implica por lo menos algún aumento en la grasa, tanto la poli-no-saturada como la saturada. Si además a la vez se presenta hemorragia, esta última actúa como un catalizador ideal (debido al oxígeno y a la hematina liberados de los eritrocitos en deterioro) para la copolimerización de la grasa no saturada.

Una útil hipótesis de trabajo puede ser resumida como sigue: cuanto más grande es la razón de grasas poli-no-saturadas a saturadas, en cualquier lugar de depósito local de lípidos, y cuanto más grande sea la proporción de catalizadores oxidantes a antioxidantes tisulares, en el mismo lugar, tanto más abundante será la formación de pigmento ceroides. Tal coexistencia de factores ocurrirá principalmente en los animales alimentados con grandes cantidades de grasas poli-no-saturadas y cantidades bajas de tocoferoles. Sin embargo, las condiciones necesarias para la formación del ceroides obviamente pueden existir localmente (por ejemplo, hemorragia dentro de una placa ateromatosa grasa) sin haber ninguna anomalía nutricional generalizada.

El concepto arriba expuesto puede ser expresado en forma de una ecuación:

$$\text{Proporción de } \frac{\text{Grasas poli-no-saturadas}}{\text{Grasas saturadas}} \times \text{proporción de } \frac{\text{Catalizadores oxidantes}}{\text{Antioxidante tisular}} = \text{Cantidad de ceroides}$$

Experimentos con ratas deficientes en colina proporcionan un ejemplo de la aplicación de los principios incluidos en la fórmula arriba mencionada (Hartroft, *Am. J. Path.* 31, 381 (1955)). Cuando a estas ratas se les administraron dietas en las que la grasa provenía principalmente de cerdo (saturada) y dos veces por semana se les daban oralmente suficientes suplementos de tocoferol, la formación de ceroides era suprimida casi totalmente en los hígados cirróticos. Pero en otro grupo de ratas en que la grasa de cerdo fue sustituida por aceite de maíz y la vitamina E fue suprimida de la dieta básica, el pigmento ceroides se encontró en grandes cantidades en todos los hígados cirróticos. Aún en ratas normales se ha demostrado que al comprimir la grasa del epidídimo produciendo una mezcla de grasa y glóbulos rojos en el tejido, aparentemente se liberan suficientes grasas no saturadas que se mezclan con glóbulos rojos extravasados satisfaciendo las condiciones de la ecuación arriba mencionada y resultando en la rápida formación de ceroides, como se postuló originalmente.

La prueba histoquímica usada generalmente para detectar el pigmento ceroides consiste en colorear con "Oil red O" en secciones parafinadas (de las cuales se ha removido toda la grasa normal por lavado con alcohol y xilol). Usando esta prueba, el ceroides no siempre se ha encontrado en los lugares que podrían predecirse de acuerdo con la hipótesis anterior. Por ejemplo, debería esperarse encontrar ceroides consistentemente en todos los trombos, como resultado de la mezcla de grasas poli-no-saturadas derivadas del suero, con los eritrocitos en degeneración que se encuentran entre la fibrina y el esqueleto de plaquetas, así como dentro del mismo; pero, el examen de arterias coronarias con trombosis procedentes de aproximadamente 100 casos fatales de infarto del miocardio, por medio de la coloración con "Oil red O" de secciones parafinadas, reveló el pigmento únicamente en cerca de la mitad de los casos. Una analogía derivada de publicaciones hechas por químicos de pinturas nos sugirieron una posible explicación de su presencia inconstante. Aún cuando esta analogía parezca ingenua, nos arriesgamos a citarla.

El endurecimiento de una pintura al óleo (usualmente grasas no saturadas como aceite de semilla de linaza) que resulta en un film de un hidrocarburo insoluble al ser extendida en una pared ocurre gracias a la acción catalítica del oxígeno atmosférico y del calor. Los aceites que sufren esta reacción de manera completa se llaman "aceites secantes". Sin embargo, existe un número de aceites con relativamente pocas uniones no saturadas, como el aceite de oliva, que no se endurecen por más tiempo que se les exponga al aire y que se llaman "aceites semi-secantes". Este tipo de aceites son insolubles sólo en aquellos solventes orgánicos débiles como el alcohol pero se disuelven en los fuertes tales como el aguarrás, el xilol o el éter. Este análogo sugiere la posibilidad de que en los tejidos también haya una forma parcialmente polimerizada de grasas las cuales aún cuando extraíbles con xilol (comúnmente usado en la preparación de secciones en parafina) no serían disueltas por el alcohol usado en concentraciones escasamente adecuadas para remover los lípidos normales tisulares no alterados.

Usando la técnica de compresión de la grasa del epidídimo nosotros pudimos probar esta hipótesis (Hartroft, *Fed. Proc.* 22, 250 (1963)). Durante la primera semana después de la operación y posteriormente en un grado menor, la mayoría de los lípidos alterados en las secciones fueron insolubles en alcohol etílico o isopropílico a 90% (extracción por 15 minutos a 37°C) pero se pudieron extraer en su totalidad usando xilol (extracción por 14-16 horas a 37°C). La extracción más débil del alcohol aún era suficiente para remover la grasa no alterada del interior de células adiposas no dañadas presentes en estas secciones histológicas. Este pigmento semi-insoluble lo llamamos *inter-ceroides* o *pre-ceroides*. El examen de una serie de tejidos humanos y de animales experimentales en busca de esta forma intermediaria no ha sido completado. Es posible que el *inter-ceroides* sea encontrado en algunas de las condiciones donde no ha podido detectarse ceroides a pesar de que su presencia era de esperarse de acuerdo con nuestra hipótesis de trabajo.

En conclusión, las nociones aquí expresadas indican que la formación de ceroides e *inter-ceroides* es una reacción fundamental de los tejidos ante una extensa variedad de daños, ya sean éstos inducidos de manera mecánica o nutricional. Las implicaciones de este concepto puede que tengan algo más que sólo un interés teórico. Es posible que en ciertas situaciones esta reacción sea fibrogénica y que tenga además algunos otros efectos. Por ejemplo, recientemente hemos podido demostrar que cuando coágulos conteniendo grasas poli-no-saturadas son inyectados en las venas de las orejas de conejos resultan en la formación de ceroides cuando estos coágulos son atrapados en los vasos pulmonares. Los coágulos resisten fibrinólisis en mayor grado que en las preparaciones de control a las que se les inyectó coágulos conteniendo cantidades iguales de grasa saturada (D.A. Legge y R.A. Bear, *Fed. Proc.* 25, 324 (1966); Bear, Legge y Hartroft, *Ibid.* 25, 324 (1966)).

Este experimento se diseñó con base en la hipótesis de que fibrina recubierta con ceroide en los trombos sería más resistente o menos accesible a la acción fibrinolítica de las enzimas; los resultados arriba mencionados aparentemente respaldan esta hipótesis. Si las grasas poli-no-saturadas de la dieta pueden ser incorporadas de manera similar en los trombos que se forman en el hombre, se puede pensar o postular que éstos tendrán una mayor resistencia a la trombólisis bajo condiciones de una alta ingesta de grasas vegetales. La implicación de este concepto en términos de nuestras nociones actuales acerca de la profilaxis dietética del infarto del miocardio es obvia, pero requiere más investigación. Nosotros citamos esta posibilidad (aún cuando remota en la actualidad) para enfatizar la necesidad de seguir estudiando el problema de la formación de ceroide e inter-ceroide con el esfuerzo combinado de patólogos, bioquímicos y nutricionistas, en forma multidisciplinaria.

CAPITULO IX

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE NUTRICION EN RELACION A DIABETES MELLITUS

Robert E. Hodges, M.D.

Aunque no se conoce exactamente la incidencia de la diabetes mellitus, esta enfermedad se ha encontrado en todas las naciones y razas del mundo. Datos estimativos razonablemente exactos consideran el número de diabéticos reconocidos en los Estados Unidos en dos millones aproximadamente. Además es posible que otro millón y medio padezca de diabetes aunque ésta no se haya reconocido. Estos datos sugieren que alrededor del 2% de la población total de este país padece de diabetes. Esto no incluye el gran número de la población que tiene diabetes latente, demostrable sólo por una respuesta anormal a la prueba de tolerancia de la glucosa con cortisona. Experiencias previas han demostrado que por lo menos una cuarta parte de las personas realmente obesas tienen diabetes latente y que una porción bastante apreciable de las personas ancianas tiene una curva de tolerancia a la glucosa anormal (*Nutrition Reviews* 20, 192 (1962)). Si se unen todos estos grupos formados por los diabéticos reconocidos, los con diabetes latente con o sin obesidad y el formado por personas ancianas con una curva de tolerancia de la glucosa anormal, el total probablemente excedería al 10% de la población de los Estados Unidos.

Las estadísticas han demostrado que una prueba de tolerancia a la glucosa anormal coloca a las personas que la presentan en un grupo más susceptible, grupo que muestra en general una mortalidad mayor que la normal. Las mujeres con una diabetes mellitus franca se ven afectadas de una manera más adversa que los hombres. En la población masculina no diabética de raza blanca la mortalidad en general para todas las edades es de 10.5 por mil personas por año comparada con un 11.4 en los hombres diabéticos. Mujeres no diabéticas, por el otro lado tienen una incidencia de mortalidad de sólo 6.4 por 1000 por año comparado con casi el doble de esa incidencia, 13.6, en aquellas mujeres que padecen diabetes. Así pues el diagnóstico de diabetes mellitus no sólo coloca al paciente en un grupo de más riesgo sino que también elimina completamente las diferencias de sexo de que la mujer usualmente ha gozado en lo que respecta a tasas de mortalidad (*Statistical Bulletin* 45, 7, Agosto 1964; 46, 1, Agosto 1965).

Si uno examina la causa de muerte en los pacientes diabéticos salta a la vista que las enfermedades vasculares en general son muy comunes y que en particular, la enfermedad coronaria del corazón, es aún más común que en la población general. De acuerdo con A. Marble (*Med. World News* 6(38), 146 (1965)) el índice de mortalidad producida por enfermedades vasculares en los diabéticos es 2 1/2 veces mayor que el promedio para el hombre y 3 1/2 para la mujer, siendo de especial importancia la temprana edad en que ocurre la muerte por enfermedad vascular en este grupo. En personas comprendidas entre las edades de 15 a 34 los hombres diabéticos tienen una tasa de mortalidad 12 veces y las mujeres casi 20 veces mayor que en la población no diabética.

Debemos preguntarnos entonces si esta mortalidad excesiva debida a enfermedad vascular representa parte inherente del estigma diabético o será el resultado de la manera como nosotros

tratamos la diabetes mellitus o una combinación de estos factores. Aunque no seremos capaces de responder esta pregunta específicamente se puede obtener alguna noción del problema si revisamos la información actualmente existente.

Sabemos, por ejemplo, que en este país el hombre hospitalizado con un infarto del miocardio frecuentemente mostrará una curva de tolerancia a la glucosa anormal durante el período de hospitalización. Si reexaminamos a estas personas un año más tarde descubriremos que sólo aproximadamente un tercio del total todavía mostrará una curva anormal. En otras palabras, esas personas tienen una diabetes franca o latente. Esto sugiere que el factor de herencia juega un papel muy importante en el desarrollo de este problema y que la intolerancia a los carbohidratos puede estar relacionada de alguna manera, aunque desconocida por el momento, con el proceso aterosclerótico. Por otra parte, existen numerosos informes los cuales sugieren que las prácticas dietéticas puedan influir en la incidencia de diabetes mellitus clínicamente reconocible (J. Yudkin, *Lancet* 1, 645 (1956); 2, 155 (1957); 2, 4 (1964); A.M. Cohen, *Am. Heart J.* 65, 291 (1963)). Se llega a tener esta impresión también cuando se compara la incidencia de mortalidad entre pacientes diabéticos durante períodos de guerra y de paz; la misma impresión se obtiene al estudiar los resultados obtenidos en estudios donde se ha evaluado el consumo nacional de cierto tipo de nutrimentos.

Durante la década pasada se han hecho muchos trabajos de investigación orientados a estudiar la correlación del proceso aterosclerótico con factores dietéticos que potencialmente pueden ser corregidos. Ciertas enfermedades se caracterizan por una elevación del colesterol sérico y de otros lípidos, habiendo sido demostrado que presentan también una alta incidencia de enfermedad isquémica del corazón (M.M. Gertler y P.D. White, *Coronary Heart Disease in Young Adults*. Harvard University Press, Cambridge, 1954; L.N. Katz y J. Stamler, *Experimental Atherosclerosis*. Charles C. Thomas Co., Springfield, Illinois, 1953). Varios investigadores han reportado una mayor incidencia de enfermedad coronaria en poblaciones con niveles altos de colesterol sérico al comparárseles con poblaciones que muestran niveles de colesterol bajos. En un estudio (A. Kagan, W.B. Kannel, T.R. Dawber y N. Revotski, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 97, 883 (1963)) se logró demostrar, estadísticamente en grupos de personas, una asociación entre altos niveles séricos de colesterol y alta incidencia de enfermedad coronaria. De una manera similar la concentración de triglicéridos en la sangre parece ser más alta en grupos con mayor riesgo de enfermedad coronaria, (M.J. Albrink y E.B. Man, *Arch. Int. Med.* 103, 4 (1959)), aún cuando la evidencia presentada hasta el momento no es tan firme al respecto. Es indudable que el clínico puede disminuir la concentración de colesterol sérico en la mayoría de los pacientes por varios métodos dietéticos. En general estos métodos incluyen la reducción del colesterol en la dieta y sustitución de ácidos grasos saturados, particularmente el ácido mirístico y palmítico, por ácidos grasos no saturados. (D.M. Hegsted, R.B. McGandy, M.L. Myers y F.J. Stare, *Am. J. Clin. Nutrition* 17, 281 (1965)). Evidencias preliminares sugieren que el disminuir la concentración de lípidos en la sangre por medios dietéticos puede reducir de manera exitosa la incidencia de oclusión coronaria (G.J. Christakis *et al.*, *Am. J. Pub. Health* 56, 299 (1966)).

Tradicionalmente los pacientes con diabetes han sido tratados con dietas. Antes del advenimiento de la insulina la dieta cetogénica no sólo reducía la poliuria y la polidipsia sino que en algunos casos era realmente salvadora (F.M. Allen, E. Stillman, y R. Fitz, *Rockefeller Institute Monograph* 11. New York, 1919). Esta dieta contenía grandes cantidades de grasa y proteínas de origen animal restringiendo los azúcares y almidones lo más posible. Con la introducción de la insulina la dieta clásica, prescrita al diabético, se modificó de manera cautelosa incluyendo carbohidratos dentro de la misma no sólo para satisfacer el apetito del paciente sino para prevenir también la cetosis. Usualmente se considera que 100 g. de carbohidrato por día

es una cantidad adecuada. La mayoría de las dietas recomendadas para los diabéticos todavía limitan los carbohidratos usualmente a cantidades por debajo de 200 g. por día. Cantidades mayores que éstas se han evitado especialmente por dos creencias: una, que se necesitaría mayor cantidad de insulina al administrársele al diabético mayor cantidad de carbohidratos, y 2) que la sustitución de carbohidratos por grasa podría llevar a una hipertrigliceridemia.

Al presente ambas creencias son objeto de una evaluación crítica a la luz de los conocimientos actuales.

A este respecto es muy interesante comparar la evolución de pacientes diabéticos en el Japón (S. Wada *et al.*, *Diabetes* 13, 485 (1964)) con la presentada por los diabéticos en los Estados Unidos.

A pesar de que la diabetes es tan común en el Japón como en los Estados Unidos, el tipo de regulación dietética es completamente diferente. El paciente japonés con diabetes mellitus tiene menos cambios en su menú cotidiano, fuera de regularse la cantidad total de calorías se le permite comer alrededor de 350 g. de carbohidratos diariamente y, por el contrario, sólo consume alrededor de 30 g. de grasa. Esta dieta es resultado de las costumbres del país y no de diseño experimental. Es interesante notar que la tasa de mortalidad en pacientes diabéticos en el Japón es considerablemente menor que la de los Estados Unidos: 9.3 por 1000 por año en hombres y 10.5 por 1000 por año en mujeres (comparada con 11.4 y 13.6 respectivamente en los Estados Unidos). También la frecuencia de complicaciones vasculares en pacientes diabéticos aparentemente es menor en el Japón que en los Estados Unidos (T. Saito *et al.*, *Tohoku J. Exp. Med.* 71, 86 (1959)); por ejemplo hay menos enfermedad vascular periférica, gangrena de las extremidades inferiores y enfermedad coronaria del corazón. Además la incidencia de acidosis es alrededor de un décimo en estos pacientes que en su contra parte. Por supuesto uno debe preguntarse si estas diferencias en la severidad aparente de la enfermedad son el resultado de características raciales o de los hábitos dietéticos. Sería de suma utilidad poder comparar de manera cuidadosa pacientes diabéticos viviendo en el Japón con pacientes japoneses diabéticos viviendo en América.

Al presente existe suficiente evidencia para sugerir que los diabéticos americanos pueden consumir una dieta que es químicamente muy similar a la de los japoneses sin que la incidencia de las temidas complicaciones de esta enfermedad aumente. D.B. Stone y W.E. Connor (*Diabetes* 12, 127 (1963)) han comparado los hallazgos clínicos y de laboratorio en pacientes diabéticos a los que se les dió la dieta tradicional recomendada por la American Diabetes Association o una dieta experimental en la cual se habían sustituido cantidades grandes de grasa por carbohidratos. Las cantidades de colesterol, contenidas en la dieta experimental eran muy reducidas a la vez que la naturaleza de las grasas se modificó aumentando las no saturadas. En la dieta tradicional se dieron alrededor de 100 g. de grasa comparados con 49 g. en la experimental; los 220 g. de carbohidratos de la dieta tradicional se reemplazaron por 358 g. en la experimental y los 800 a 1000 mg. de colesterol usual se redujeron a 100 mg. por día en la dieta experimental. Con este tipo de dieta los pacientes diabéticos se mantuvieron bien controlados sin requerir mayor cantidad de insulina. La concentración del colesterol y de los triglicéridos en la sangre disminuyó de manera significativa. Otros estudios diseñados para evaluar la relación entre la dieta del diabético y la incidencia de complicaciones vasculares están siendo efectuados en varias partes del mundo. Así J.K. Lloyd está estudiando niños diabéticos a los que se les han dado dietas que contienen mayor cantidad de grasas no saturadas en sustitución de grasas saturadas (*Program of the Nutrition Society, Royal Infirmary, Edinburgh, October 30, 1965*).

Uno no debe olvidar, mientras siguen las especulaciones respecto al posible papel que juega la dieta en la alta incidencia de enfermedad vascular en pacientes diabéticos, el hecho de que estos pacientes tienen los mismos requerimientos nutricionales que cualquier otra persona. Los niños diabéticos necesitan cantidades suficientes de proteínas de alta calidad así como calorías y nutrimentos esenciales en su dieta para asegurarles un desarrollo y crecimiento apropiado. Al paciente diabético adulto también se le debe proveer con todos los factores nutricionales básicos requeridos por aquellas personas que no son diabéticas. La idea de que los pacientes diabéticos requieren mayor cantidad de vitaminas no ha sido probada definitivamente. La controversia en relación a las ventajas y desventajas de aumentar la cantidad de carbohidratos o grasas en la dieta es secundaria ante la importancia de cumplir con estos principios.

Existen todavía nutricionistas de reconocida autoridad que favorecen el uso de una dieta alta en grasa para el tratamiento de pacientes diabéticos. Así, la edición reciente de un libretto popular asevera que "las fuentes de carbohidratos rápidamente absorbibles como azúcar, dulce y jugos de frutas, deben de evitarse lo mismo que se deben de limitar los almidones refinados lo más posible". (B.R. Burton, *The Heinz Handbook of Nutrition, Second Edition*, p. 248. McGraw-Hill Book Co., Blakinston Division, New York, 1965).

Un reporte de la China informa que los pacientes diabéticos en ese país son alimentados con una dieta conteniendo 338 g. de carbohidratos, 38 g. de grasa y 47 g. de proteína. Estos pacientes tienen niveles de lípidos mucho más bajos que los observados en pacientes diabéticos en los Estados Unidos pero más elevados que los encontrados en Chinos no diabéticos (Chung Hsueh Li, Lin Shan-yen, Li Wen-Ching y Ch'iu Ch'uan-lu, *Chinese Med. J.* 84, 451 (1965)).

Los autores aseguran que "con esta dieta, aún cuando la incidencia de aterosclerosis es mayor en los pacientes diabéticos que en los grupos no diabéticos de edades y sexo comparables, la misma es menor que en muchos otros países teniendo la enfermedad en sí una evolución menos severa". Aún cuando hasta el presente no hay una prueba definitiva de este hecho, es alentador observar el alto grado de interés por este problema despertado en investigadores no sólo de países orientales sino occidentales. Podemos tener la esperanza que estudios diseñados cuidadosamente nos proporcionarán en el futuro información sustancial suficiente en lo que respecta a la manera más favorable de tratar dietéticamente a los pacientes diabéticos.

CAPITULO X

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE NUTRICION Y CARIES DENTAL

James H. Shaw, Ph.D.

Durante la última década se ha acumulado valiosa información acerca de la etiología de la caries dental y de su aspecto epidemiológico, desde el punto de vista del agente, el huésped y el ambiente. Al presente ninguna evaluación de laboratorio o estudio clínico podría tener completa validez si en su diseño o realización no se incluyen y controlan estos tres factores epidemiológicos determinantes de la etiología de la caries dental. El progreso logrado en los últimos diez años se ha debido primordialmente a los estudios con animales de experimentación; las contribuciones derivadas de estudios en humanos han sido menores, con excepción de las relativas al papel del flúor que se describen en otro capítulo. Muchos de los hallazgos en animales de experimentación necesitan ser adecuadamente confirmados en estudios clínicos.

La caries dental en animales de experimentación aparece solamente en presencia de una flora oral favorable. Sin lugar a duda, la caries dental en el hombre es también de origen bacteriano. La necesidad de los microorganismos para la producción de caries experimental fue señalada por primera vez por F.J. Orland et al., (*J. Dent. Res.* 33, 147 (1954)) y confirmada por R.J. Fitzgerald, H.J. Jordan y H.R. Stanley (*Ibid.* 39, 923 (1960)). Ambos grupos de investigadores mantuvieron ratas en dietas productoras de caries bajo condiciones libres de gérmenes, no observando la aparición de caries.

Los microorganismos que potencialmente producen caries parecen ser mucho más limitados en número de lo que se creía hace diez años. Se ha demostrado que bajo ciertas condiciones de laboratorio, los microorganismos responsables de la producción de caries pueden ser transmitidos de un animal con lesión activa a otro animal de la misma especie que previamente no presentaba evidencia de caries activa. La continuación de estos estudios, con procedimientos paralelos, condujo al reconocimiento de que cinco cepas de estreptococo bioquímicamente similares aisladas de una lesión de caries en el hámster, eran individualmente capaces de producir lesiones en hámsters con dientes sanos (*Nutrition Reviews* 19, 105 (1961)). Cultivos combinados de 6 cepas de organismos difteroides o de 6 cepas de lactobacilo aislados de hámsters libres de caries activas no tuvieron ningún efecto cuando se inocularon en forma similar. Un hallazgo interesante, aún no explicado o explorado adecuadamente, indicó que hay muy poca susceptibilidad cruzada del hámster a los microorganismos de la rata y viceversa (R.J. Fitzgerald, *Ibid.* 66, 597 (1963)).

K.S. Berman y R.J. Gibbons (*Arch. Oral Biol. (Londres)* 11, 533 (1966)) estudiaron la habilidad de varios microorganismos para almacenar intracelularmente polisacáridos yodofílicos. Cepas de estreptococo capaces de producir caries en hámsters y en ratas podían sintetizar y almacenar este tipo de polisacáridos, y después utilizarlos durante la ausencia de una fuente exógena de energía. Los estreptococos que no son activos en la producción de caries en animales, fueron incapaces de producir y almacenar uniformemente este tipo de polisacáridos. Además, el 60% de las bacterias cultivables de lesiones de caries en humanos resultaron ser pro-

ductoras de fuentes de polisacáridos, en contraste con solamente un 13% de las aisladas de placas de dentaduras libres de caries.

Gibbons, Berman, P. Knoettner y B. Kapsimalis (*Arch. Oral Biol. (Londres)* 11, 549 (1966)) observaron que dos cepas de estreptococo aisladas de lesiones de caries humanas fueron capaces de producir individualmente extensas lesiones cuando se inocularon a animales libres de gérmenes. Una tercera cepa aislada no fue capaz de inducir caries bajo circunstancias similares. Se ha encontrado que siete cepas de estreptococos cariogénicos, aisladas de roedores y del hombre, forman grandes cantidades de cápsulas extracelulares no-dializables a partir de carbohidratos como la sacarosa. Esto sugiere que la formación de cápsula puede ser importante en el proceso de producción de caries, permitiendo que los microorganismos se adhieran a la superficie de los dientes.

En otro tipo de estudio D.D. Zinner, J.M. Jablon, A.P. Aran y M.S. Saslaw (*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 118, 766 (1965); *Proceedings of Forty-third General Meeting, International Association for Dental Research, abstracto 261 (1965)*) aislaron de lesiones de caries en humanos unos microorganismos inmunológicamente similares a las cepas aisladas de la cavidad oral de ratas y hámsters, y encontraron que algunas de estas cepas producían lesiones en estos animales.

Es obvio que los datos disponibles son todavía insuficientes para permitir amplias generalizaciones. Sin embargo, ya no puede considerarse tan remota la posibilidad del uso de algún antibiótico, o antibióticos específicos, para inhibir el crecimiento de microorganismos responsables de la producción de caries en el hombre. Al presente se sabe muy poco con respecto a si algún nutriente en la dieta pueda alterar la flora microbiana directamente.

Se conoce mucho menos aún sobre la contribución del factor "huésped" que acerca de los agentes bacterianos o de las influencias ambientales de los carbohidratos. Muchas encuestas epidemiológicas en poblaciones primitivas han indicado una prevalencia mucho menor de caries dental en éstas que en sociedades más desarrolladas (G.N. Davies, en *Caries-resistant Teeth*, G.E.W. Wolstenholme y M. O'Connor, Editores. Little, Brown and Co., Boston (1965)). La tendencia ha sido la de interpretar estos hallazgos como indicativos de una alta resistencia a la caries como característica genética. Se ha prestado muy poca atención a la posibilidad de que en las sociedades primitivas los patrones dietéticos puedan haber contribuido nutrimentos durante la época del desarrollo del diente que influyan sobre la susceptibilidad a la caries después de que el desarrollo termine.

Es probable que en muchas poblaciones primitivas no haya existido un adecuado estímulo para el desarrollo de la caries, ya sea de origen bacteriano o de ambiente oral, o ambos. En efecto, al presente es imposible determinar si una prevalencia baja de caries en una población, o en individuos en particular, es debida a resistencia genética, al nivel de nutrición durante el desarrollo del diente, o simplemente a falta de estímulo bacteriano o ambiental en la cavidad oral. Sin embargo, J.M. Dunning y J.H. Shaw (en *Nutrition and Caries Prevention*, G. Blix, Editor. Swedish Nutrition Foundation, Stockholm, 1965) citan múltiples variables, que podrían favorecer el mantenimiento de una incidencia baja de caries en ciertas poblaciones independientemente del factor genético: Altos niveles de fluoruro en el esmalte y la dentina de los dientes en la India, la poca frecuencia de las comidas, la baja disponibilidad de monosacáridos y disacáridos, y una mayor cantidad de luz solar durante el año.

Un mejor ejemplo de resistencia a la caries serían posiblemente los individuos que, viviendo en áreas donde las caries son prevalentes mantienen su dentadura libre de caries por varios

períodos de tiempo. Numerosos investigadores han seleccionado individuos libres de caries de grandes grupos de población para observaciones experimentales. En general, estos estudios han proporcionado poca evidencia que sugiera un factor único responsable de este bajo índice de caries. Queda siempre la duda de si estos individuos pueden no haber recibido nunca el estímulo adecuado.

En estudios con animales se han seleccionado diferentes variedades de roedores para enfatizar características de resistencia o susceptibilidad a la caries. Las variedades Hunt-Hoppert son las mejor conocidas. En la variedad resistente no se desarrollaron caries bajo condiciones experimentales sino hasta la edad promedio de 600 días, mientras que en la variedad susceptible las lesiones aparecieron a los 70 días.

Cuando las ratas recién nacidas, resistentes o susceptibles, fueron amamantadas desde el nacimiento, por madres de la variedad opuesta, sus índices de caries permanecieron característicos de su herencia genotípica. Además, cuando la flora oral de las ratitas jóvenes fue inhibida por penicilina y seguidamente reestablecida por inoculación con flora de ambas variedades, los índices de caries fueron de nuevo típicos del ancestro genético (S. Rosen *et al.*, *J. Dent. Res.* 41, 1013 (1962)). Estudios similares con las variedades resistentes y susceptibles de Harvard indican que las proles tienen tendencia a mostrar características fenotípicas de prevalencia de caries que son típicas de su constitución genotípica (Shaw, D. Griffiths y A. Terborgh, *Arch. Oral Biol.* 7, 693 (1962)).

Bajo otras condiciones ambientales, la variedad Hunt-Hoppert demostró niveles mucho más altos de caries que los descritos por Rosen *et al.* Cuando las variedades de Harvard fueron estudiadas bajo otros estímulos bacterianos y condiciones dietéticas, R.H. Larson (*J. Dent. Res.* 44, 1402 (1965)) observó tasas de caries mucho más altas que en los hallazgos de Shaw y colaboradores.

Estos estudios indicaron claramente que la intensidad relativa del estímulo cariogénico variaba de laboratorio a laboratorio y que la resistencia y la susceptibilidad a caries son términos relativos. Es preciso emplear estímulos apropiados para revelar las diferencias entre variedades en cuanto a susceptibilidad o resistencia a caries.

Probablemente la evidencia más clara en favor de un factor genético fue proporcionada por Larson y M.E. Simms (*Science* 149, 982 (1965)). Ratitas hembras de una variedad albina fueron cruzadas doblemente con machos de la misma variedad y con machos de una variedad negra en la cual el color negro es dominante. La prole blanca homocigótica mostró una prevalencia mucho más alta de caries que la prole negra heterocigótica. En ningún experimento anterior se habían observado circunstancias que proveyeran un estímulo bacteriano y dietético más similar que en este estudio. La única explicación evidente para la diferencia entre las proles parece ser la contribución cromosómica de los padres.

Hasta la fecha no se ha presentado ninguna evidencia concluyente en favor de otras influencias con excepción del fluoruro (ver el capítulo sobre fluoruro) en nutrición humana. Sin embargo, en animales de experimentación existen otras influencias que requieren comentario breve.

Se ha demostrado que la nutrición durante el desarrollo del diente modifica los dientes en relación a tamaño, tiempo de erupción, y posterior susceptibilidad a caries. Trabajos anteriores al respecto han sido revisados por K.J. Paynter y R.M. Grainger (*J. Am. Med. Assn.* 177, 306 (1961)). Una deficiencia marginal de vitamina A, una razón de calcio/fósforo baja (1:3), o un

suplemento de 12 p.p.m. de fluoruro, administrado a ratas hembras durante el embarazo y la lactancia, resultan en molares más pequeños en la prole. Bajo estas condiciones experimentales la deficiencia de vitamina A no afectó la incidencia de caries dental, mientras que la razón calcio/fósforo baja resultó en mayor actividad de caries.

Estudios posteriores en ratas con deficiencia marginal de proteínas, durante el embarazo y la lactancia, resultaron en molares más pequeños en la prole, erupción tardía de los molares, mayor incidencia de caries y ausencia de las protuberancias en los terceros molares (Shaw y Griffiths, *J. Nutrition* 80, 123 (1963)). En vista de que la madre fue el intermediario de la deficiencia proteica no se pueden derivar conclusiones finales sobre el mecanismo real que causa estos cambios en la prole. Hasta la fecha no se dispone de evidencia que indique que una deficiencia proteica en el hombre, durante el desarrollo del diente, tenga efectos comparables

En la rata, suplementos de cloruro de sodio, carbonato de litio, carbonato de estroncio y paramolibdato de amonio, resultaron en aumentos significativos en la susceptibilidad a caries de la prole (Shaw y Griffiths, *Arch. Oral Biol. (Londres)* 5, 301 (1961)). Estos resultados son también de interpretación difícil debido a que los suplementos dietéticos tuvieron que ser administrados a la madre durante el embarazo y la lactancia en lugar de hacerlo directamente a la prole. B.J. Kruger (*J. Dent. Res.* 41, 215 (1962)), trató de evitar este problema inyectando ácido bórico, fluoruro de sodio, o molibdato de amonio directamente a las ratas recién nacidas lactantes entre el nacimiento y el undécimo día de edad. La susceptibilidad a caries fue reducida en todas las pruebas y los molares mostraron surcos más anchos y menos profundos que aquéllos de los controles.

Se necesitarán muchos estudios meticulosos y cuidadosamente controlados para poder resolver estas incógnitas. Muy probablemente se necesitarán investigaciones en especies de primates subhumanos para dilucidar adecuadamente las relaciones, no sólo en cuanto a susceptibilidad a caries sino también en relación a composición química y morfología.

El ambiente total es de gran importancia en la determinación del nivel general de incidencia de caries dental. Parámetros tales como la cantidad y tipo de alimentos disponibles, el patrón dietético, el estado económico, el número de horas de luz solar por año, la humedad, el tipo y cantidad de ropa, la composición del agua, y la higiene oral son determinados por el ambiente y contribuyen al nivel de caries en la población. Más específicamente, el ambiente oral y especialmente el microambiente, sobre las superficies de los dientes susceptibles a caries, determina en gran parte la aparición de caries. Cuando están presentes los microorganismos apropiados y los nutrientes adecuados para éstos se encuentran disponibles, la probabilidad de que se desarrollen caries es extremadamente alta.

El componente dietético fundamental son los carbohidratos. En experimentos con roedores, se ha descrito una alta incidencia de lesiones de caries cuando la dieta contenía monosacáridos y disacáridos, pero incidencias muy reducidas cuando la dieta contenía sólo almidón. Otros estudios sugieren que esta misma diferencia puede ser demostrable en el hombre. Encuestas dentales llevadas a cabo en niños "Adventistas del Séptimo Día" indicaron que éstos tenían consistentemente menos caries que niños de otros grupos dentro de la misma comunidad (R.A. Down, M.M. Dunn y E.L. Richie, *Am. Assn. Pub. Health Dent. Bull.* 18, 19 (1958); C.J. Donnelly, *Pub. Health Rep.* 76, 209 (1961); R.L. Glass y J. Hayden, *J. Dent. Child.* 23, 22 (1966)).

Los autores atribuyeron las tasas menores de caries de los niños Adventistas al hecho de que, por precepto religioso, a estos niños se les limita mucho el consumo de dulces y otras golosinas entre las comidas principales.

Los efectos del grado de higiene oral y del consumo de golosinas dulces fueron estudiados por J.N. Mainsbridge (*Brit. Dent. J.* 109, 343 (1960)). Los 146 niños en el grupo de edad 12-14 años a quienes se consideró que tenían buena higiene oral tuvieron un índice de dientes caria- dos, perdidos y obturados (CPO) de 9.58 en contraste con un índice de 11.47 para los 118 niños a quienes se consideró que tenían una inadecuada higiene oral. Esta diferencia fue significativa al nivel de 1%. Cuando se consideró la cantidad de golosinas dulces y chocolate que consumían estos niños resultó que 177 niños con menos de 8 onzas de consumo por semana tenían un CPO de 9.60 en contraste a 10.83 para aquellos que consumían más de 8 onzas por semana. Esta diferencia también fue significativa al nivel de 1%.

La posibilidad de que los almidones no sean altamente cariogénicos en el hombre no ha sido completamente probada. Sin embargo, evaluaciones de incidencia de caries en pacientes con intolerancia a la fructosa, quienes tienen tendencia a omitir todos los monosacáridos y disacáridos de su dieta, han indicado niveles de caries mucho más bajos que en sus parientes normales o en la población general (E.R. Froesch *et al.*, *Am. J. Med.* 34, 151 (1963); M. Cornblath *et al.*, *New Engl. J. Med.* 269, 1271 (1963)).

B. Krasse (*Arch. Oral Biol.* 10, 215, 223 (1965)) ha informado que la sacarosa resultaba en una progresión más rápida de caries en el hámster que la glucosa. Este autor llamó la atención hacia el trabajo de J. Carlsson y Egelberg (*Odont. Rev.* 16, 42, 112 (1965)), quienes describieron una mayor acumulación de placas en perros y en el hombre cuando la dieta contenía sacarosa. En la rata se ha encontrado muy poca o ninguna diferencia entre el efecto de sacarosa, glucosa y maltosa (Shaw, I. Krumins, y R.J. Gibbons, *Arch. Oral Biol.* 12, 755 (1967)).

Ha recibido mucha atención el efecto de los fosfatos sobre la caries dental, principalmente durante el período posterior al desarrollo. Bajo diversas circunstancias muchos fosfatos inorgánicos y orgánicos resultan en menos caries en roedores usados como animales de experimentación. En poblaciones humanas se ha observado muy poco o ningún beneficio (*Nutrition Reviews* 23, 307 (1965)).

Varios estudios han sugerido una relación entre caries y piridoxina, durante el período posterior al desarrollo. Se notó una mayor incidencia de caries que lo usual en monos de la especie *Rhesus* alimentados con dietas deficientes en piridoxina. En vista de que este primate subhumano raramente desarrolla caries en comparación con el roedor comúnmente usado como animal de experimentación, el nivel de caries descrito fue considerado como muy marcado. Estudios con hámsters alimentados con dietas cariogénicas suplementadas con cantidades adicionales de piridoxina han indicado un efecto benéfico moderado.

Dos grupos de mujeres recibieron durante el embarazo 20 mg de piridoxina. Un grupo en forma de una cápsula de vitaminas y minerales y el otro dividido en tres dosis diarias. Un tercer grupo fue usado como control. La mayor diferencia entre los grupos pareció ser el número de mujeres en las cuales no hubo un aumento en caries dental durante aproximadamente 6 ó 7 meses; 54% permanecieron libres de caries en el grupo que recibió los 20 mg de piridoxina divididos en tres dosis, en contraste con solamente 32% en el grupo control. El aumento promedio en caries dental para las mujeres que desarrollaron nuevas lesiones fue muy similar en los 3 grupos (véase *Nutrition Reviews* 21, 143, 145 (1963)).

Estos datos son interesantes en vista de su consistencia más que porque demuestren una reducción altamente significativa en la incidencia de caries. Si existe en realidad un efecto verdadero atribuible a la piridoxina, es imposible determinar si la acción es sobre los microorganismos orales o sobre el individuo.

No se conoce en definitiva si los alimentos contienen factores protectores. Observaciones obtenidas de estudios con roedores indican la existencia de tales factores. Los fitatos, los cuales se pierden en gran parte durante el beneficio de los granos, han mostrado acción antagonística ligera contra las caries (F.J. McClure, *Science* 144, 1337 (1964); C. Dawes y Shaw, *Arch. Oral Biol. (Londres)* 10, 567 (1965)). F. Takita y P.H. Phillips observaron que el agregado de 10% de cascarilla de avena a dietas cariogénicas reducía las lesiones de caries en la rata silvestre. Algunos polifenoles obtenidos por fraccionamiento tienen actividad anticaries. Más tarde, K.O. Madsen y E.J. Edmonds observaron que la capa exterior de otras semillas como el arroz, maní, semilla de algodón, y la nuez "pecan" resultan en una reducción en caries dental (ver *Nutrition Reviews* 21, 244 (1963)).

En varios ensayos *in vitro* G.H. Jenkins (en *Nutrition and Caries Prevention*) estudió la habilidad de diversos alimentos naturales y de sus componentes para inhibir la producción de ácido y el poder de disolución del calcio de muestras de dientes. Este autor describió un gran efecto protector del jugo de caña de azúcar crudo y de las melasas negras, postulando que una mezcla complicada de sustancias era responsable por este efecto.

El conocimiento detallado acerca de las causas de la caries ha aumentado notablemente en relación a los agentes microbianos y al efecto del ambiente del diente, pero mucho menos en relación al papel del huésped. Los mejores procedimientos para el control de la caries dental incluyen una dieta bien balanceada que contenga una buena variedad de alimentos, la fluoridación de las fuentes públicas de agua potable o la administración de una cantidad apropiada de fluoruro por otras vías cuando la fluoridación de agua no es posible, buena higiene oral, y la eliminación de ingesta de alimentos entre los tiempos principales de comida, principalmente golosinas compuestas de monosacáridos y disacáridos en formas que se adhieren fácilmente a las superficies del diente y por lo tanto se eliminan difícilmente de la cavidad oral.

CAPITULO XI

LESION HEPATICA ALCOHOLICA EXPERIMENTAL

W. Stanley Hartroft, M.D., Ph.D. y B. A. Porta, M.D.

El consumo prolongado de alcohol en el hombre se acompaña de una gama muy extensa de lesiones hepáticas que van desde la acumulación de grasa neutra en los hepatocitos, hasta verdadera cirrosis mono o multilobular. Biopsias hepáticas seriadas sugieren que estas lesiones son sólo estadios evolutivos del mismo proceso, habiendo mostrado a la vez la gran frecuencia con que se encuentran lesiones inflamatorias multiformes y cambios degenerativos. Estas lesiones se pueden observar en alcohólicos cirróticos o no cirróticos, con insuficiencia hepática aguda luego de una ingesta alcohólica excesiva, ya sea por largo o corto tiempo, y cuando la misma se acompaña de una alimentación deficiente. Esta entidad morfológica llamada hepatitis alcohólica aguda con sus características estructurales "floridas" es la más frecuentemente encontrada en estos alcohólicos. Estudios recientes efectuados en el microscopio electrónico han ampliado el complejo patológico incluyendo una extensa variedad de lesiones y cambios a nivel de la mitocondria y el retículo endoplásmico en esta entidad. Algunos detalles en la configuración de los cuerpos de Mallory (los cuales han sido interpretados de manera diversa) son prácticamente patognomónicos de esta condición.

Los cambios grasos del hígado se encuentran casi siempre en los especímenes obtenidos por biopsia de alcohólicos recientemente admitidos a los hospitales y que no han recibido tratamiento.

A excepción de las áreas del hígado en regeneración, la mayoría de los hepatocitos muestran gotas de grasa de diferentes tamaños. Estas gotas coalescen para formar glóbulos de mayor tamaño que desplazan el núcleo hacia un lado. En estos hígados se observan frecuentemente quistes grasos de diferentes tamaños. Aunque algunos autores han puesto en duda el hecho de que las paredes de estos quistes grasos estén constituidas por el hepatocito, trabajos utilizando el microscopio electrónico, tanto en ratas (W.S. Hartroft, en *Aktuelle Probleme der Hepatologie*, G.A. Martini, Editor. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1962) como en humanos alcohólicos; (E.A. Porta, B.J. Bergman, y A.A. Stein, *Am. J. Path.* 46, 657 (1965)), han demostrado que estas paredes en realidad están formadas por los hepatocitos y no por células de Küpffer.

Raras veces estos quistes grasos se encuentran atrapados entre trabéculas fibrosas; a pesar de que la mayor parte de la grasa está localizada dentro de los macrófagos. Pueden encontrarse también gotas de grasa en las células de Küpffer pero lo más frecuente de observar son gránulos de ceroides, no solamente en las células fagocíticas sino también en los macrófagos trabeculares del hígado en alcohólicos crónicos. Aunque a veces no se presenta grasa en especímenes tomados de material de autopsia, el hecho de encontrar en estos casos algunos quistes grasos intratrabeculares así como macrófagos con ceroides sugiere que la cirrosis fue previamente del tipo graso.

El aumento de tamaño de las mitocondrias, cambio que parece ser uno de los más conspicuos en los hepatocitos de los hígados de alcohólicos (con o sin grasa presente), incluye elongación,

aparición de formas esféricas y de configuraciones gigantes aún más grotescas (megamitocondrias). Las cristas mitocondriales están alteradas o ausentes, y con no poca frecuencia se notan inclusiones de apariencia cristalina en estas organelas gigantes deformadas.

Aunque en la opinión de C. Biava (*Lab. Invest.* 13, 301 (1964)) los cuerpos de Mallory representan una lesión única del retículo endoplásmico de los hepatocitos, trabajos recientes en microscopía electrónica e histoquímicos indican que estos cuerpos representan megamitocondrias degeneradas. Aún más, por primera vez, estos cuerpos hialinos tan peculiares del hígado del alcohólico, han podido reproducirse en animales experimentales sometidos a ingesta crónica de alcohol (*vide infra*), habiéndose podido observar el origen de los mismos a niveles ultraestructurales (Porta, Hartroft, y F. de la Iglesia, *Lab. Invest.* 14, 1437 (1965)). Secciones que se encuentran en parafina, del hígado de estas ratas sometidas a diferente tipo de dietas líquidas conteniendo alcohol, mostraron cuerpos acidofílicos paranucleares con las mismas afinidades tintoriales que caracterizan a los cuerpos de Mallory en el hígado de seres humanos alcohólicos (E.E. Minaker y Porta, *J. Microscopie* 6, 41 (1967)). El ergastoplasma de los hepatocitos puede degenerarse morfológicamente, si se interpreta como degeneración la veciculación y disgregación de los ribosomas a la aún más frecuente hiperplasia y reorientación de las lamelas del retículo endoplásmico y liso asociadas con filas de gránulos de glucógeno orientados de manera paralela y concéntrica. Probablemente, el retículo endoplásmico tenga muy poca relación demostrable en lo que respecta al origen de los cuerpos de Mallory.

Debería considerarse el alcohol como una hepatotoxina capaz de producir en toda su intensidad los cambios ultraestructurales y estructurales arriba descritos en el hígado? Hasta el momento existen opiniones muy diversas en vista de que todavía no se ha podido establecer claramente una relación causa efecto. El hecho de que sólo una pequeña fracción de los alcohólicos desarrolle cirrosis podría sugerir que probablemente el alcohol no sea una hepatotoxina directa en el sentido estricto de la palabra.

A este respecto A.Y. Olsen (*Am. J. Med. Sci.* 220, 477 (1950)) obtuvo historias dietéticas de los cirróticos alcohólicos admitidos al hospital del Condado de Los Angeles (Los Angeles County Hospital), encontrando evidencia de una deficiente ingesta proteica en el 45% de los pacientes. Una ingestión alta de proteínas aún sin que se retire el alcohol, mejora las lesiones hepáticas en pacientes alcohólicos crónicos (W. Volwiler, C.M. Jones y T.B. Mallory, *Gastroenterology* 11, 164 (1948)). Reynolds y colaboradores han demostrado recientemente el efecto benéfico de grandes dosis de alcohol (hasta 440 ml por día de alcohol etílico) en pacientes hospitalizados con cirrosis alcohólica "descompensada" acompañadas de una ingesta proteica diaria entre 55 y 75 gramos (*Symposium on Therapeutic Agents and the Liver*, N. McIntyre y S. Sherlock, Editores, p. 131. Blackwell Sci. Pub. Oxford, 1965). Se puede asegurar con bastante certeza que anomalías dietéticas en los alcohólicos (no necesariamente solo deficiencias nutricionales sino también dietas imbalances, o ambas) son factores contribuyentes muy importantes en la etiología de esta enfermedad. Un alcohólico crónico puede consumir fácilmente más de 2,000 calorías por día en la forma de alcohol; es obvio que cuando este número de calorías se sobreimpone aunque sea a una dieta relativamente bien balanceada se producirán fácilmente imbalances, los que serán todavía de mayor severidad si esta dieta es pobre en proteínas. Encuestas dietéticas llevadas a cabo en alcohólicos hasta la fecha han descuidado frecuentemente este aspecto.

Uno de los estudios más interesantes en lo que respecta a los hábitos dietéticos de los alcohólicos es el de W.G. Figueroa *et al.* (*Am. J. Clin. Nutrition* 1, 179 (1953)), quienes estudiaron un número grande de alcohólicos admitidos a la "House of Correction" de Chicago,

Estos autores encontraron que era extremadamente difícil, si no imposible, para obtener una historia aceptable de dichos hábitos en estos alcohólicos; se obtuvo una mejor información cuando se reunió a varios alcohólicos a que conversaran y de manera casual se trajera a discusión el consumo de comida y de alcohol. A fin de poder evaluar con más detalle la dieta de estos pacientes se hicieron varias observaciones de campo directas en el área de "Skid Row" de Chicago. Con toda esta información se estimó que el promedio de consumo diario de proteínas de estos individuos era alrededor de 30 g. por día. Se postuló en vista de estos resultados que un número considerable de alcohólicos con déficit en peso corporal y probablemente aún aquellos con un peso normal, sufrían de depleción proteica. Además se observó que una proporción muy grande de esta dieta estaba formada por carbohidratos ya que los alcohólicos comían grandes cantidades de pan, bizcochos, sandwiches y espagueti. Los autores no calcularon qué proporción del total de calorías ingeridas correspondían a grasa, carbohidratos, proteínas y alcohol, pero el imbalance de esta dieta era obvio.

El médico debe evaluar lo más cuidadosamente posible la dieta de los alcohólicos crónicos, no sólo en lo que respecta a la distribución de calorías aportadas por el alcohol y los alimentos, sino también en lo que respecta a la calidad y cantidad de los distintos nutrimentos, principalmente proteína, a fin de que esta dieta sea lo más balanceada posible, tomando en cuenta que el número de calorías aportadas por el alcohol no conllevan otros factores nutritivos.

La segunda pregunta pertinente es si el alcohol puede producir daño hepático en el hombre aún cuando la dieta sea adecuada en todo respecto. Al presente, cualquier respuesta que se de a esta pregunta será motivo de gran controversia. Sin embargo, la información existente hasta el momento, obtenida a través de experimentos en ratas sometidas a ingesta crónica y aguda de alcohol, han permitido dilucidar algunos de los aspectos relativos a las alteraciones químicas inducidas por el alcohol etílico en el metabolismo de los lípidos. El mayor problema hasta el momento en opinión de los autores, es que no se haya logrado reproducir en animales de experimentación la lesión compleja observada en el humano, a pesar de todos los esfuerzos realizados.

Se ha logrado algún progreso al reproducir en ratas los cuerpos de Mallory por administración de grandes cantidades de alcohol (36% del total de calorías ingeridas), asociadas a una dieta relativamente alta en grasas (43%) y con niveles adecuados de proteína (16%). Debido probablemente a la corta duración de estos experimentos (12 semanas) o quizás a factores todavía desconocidos, no se pudo producir cirrosis en estos animales. Es interesante hacer notar el gran número de cuerpos de Mallory observados en el hígado de estas ratas sin evidencia de cirrosis; en el del humano alcohólico por el contrario, en la mayoría de las ocasiones, su presencia se asocia a la existencia de cirrosis. Los cambios grasientos observados casi universalmente en los hígados de humanos alcohólicos sí son fácilmente inducidos en animales cuando éstos consumen alcohol. Este cambio precede, al igual que en el humano, a todos los otros cambios estructurales y ultraestructurales, aún en el modelo de consumo agudo.

Los modelos experimentales de consumo agudo y crónico difieren en muchos aspectos importantes incluyendo la localización de la lesión en el lobulillo, así como también su naturaleza y la respuesta del cuadro hepático a suplementos dietéticos. Administración de etanol por vía oral en las dosis tóxicas moderadas usadas en el modelo agudo, resultan en acumulación pronta pero transitoria de lípidos en los hepatocitos periportales, estando constituidos casi exclusivamente de triglicéridos. Estos depósitos de grasa se observan como pequeñas gotitas que raramente coalescen para formar glóbulos de mayor tamaño y usualmente no desplazan el núcleo; los hepatocitos tampoco están aumentados de tamaño de manera apreciable. Los cambios gra-

sientos son seguidos por alteraciones ultraestructurales transitorias, tales como el aumento y aglutinación de las mitocondrias, la desorganización del retículo endoplasmático, la hiperplasia del aparato de Golgy y el agotamiento del glucógeno.

La administración de sucrosa en cantidades isocalóricas también induce, aún cuando en un grado menor, la acumulación de gotas pequeñas de grasa en los hepatocitos peri-portales pero sin que se observen cambios en la configuración ultraestructural citoplasmática de estas células. El hígado graso producido por la ingesta aguda de etanol no se ve modificado por la administración simultánea de colina, pero sí es prevenido por antioxidantes (vitamina E y G-50), como fue demostrado por N.R. Diluzio (*Am. J. Physiol.* 194, 453 (1958); *Life Sci.* 3, 113 (1964) y recientemente confirmado (Hartroft, Porta, y M. Suzuki, *Quart. J. Stud. Alcohol* 25, 427 (1964); Porta y Hartroft, en *Symposium on Therapeutic Agents and the Liver*, p. 145). Es posible que los altos niveles de alcohol en la sangre alcanzados durante este experimento y el consecuente paso repentino de alcohol al interior de las células hepáticas, produzcan trastornos enzimáticos responsables de las profundas alteraciones metabólicas observadas. En este sentido la lesión producida por el alcohol en el hígado durante estos experimentos podría catalogarse como una acción tóxica.

Por el contrario, las condiciones observadas en experimentos crónicos durante los cuales la ingesta diaria de alcohol fue de 4 a 5 veces mayor que la empleada en los experimentos agudos, se semejaron más a aquellas observadas en el humano alcohólico. Las grandes cantidades de alcohol utilizadas en el experimento se consumen más lentamente en el curso de varias horas. Así pues, durante la ingesta crónica de alcohol, aún cuando los efectos iniciales también se manifiestan por acumulación de cantidades anormales de triglicérido en los hepatocitos, estos depósitos se van a localizar especialmente al área centrolobulillar en lugar de periféricamente como en los experimentos agudos. El tipo de localización de la grasa en el lobulillo hepático puede ser reflejo de factores relacionados con la dieta, más que debido a una característica específica causada por la ingestión crónica de alcohol. En efecto, experimentos longitudinales a largo plazo, en los que se varió la proporción calórica aportada por grasas, proteína y carbohidratos en la dieta, han permitido concluir que la localización de la grasa dentro del lobulillo hepático no depende de la ingestión de alcohol, la cual se mantuvo constante (36%) durante estos experimentos, sino del imbalace de los varios constituyentes de las dietas utilizadas (Porta, y Hartroft, de la Iglesia, y Gomez-Dunn, *Am. J. Path.* 48, 39a (1966)).

El uso de dietas líquidas conteniendo alcohol introducidas por C.S. Lieber, D.D. Jones, J. Mendelson, y L.M. DeCarli (*Tr. Assn. Am. Phys.* 76, 289 (1963)) no sólo permiten un control cuidadoso de cada uno de los constituyentes de la dieta sino también de la cantidad de alcohol consumida; esta cantidad puede ser aumentada a niveles mucho mayores que en experimentos en que se usan dietas sólidas y el alcohol se administra mezclado con el agua de bebida. Animales jóvenes a los que se les administró esta dieta líquida conteniendo alcohol crecieron relativamente bien (3g por día) y usualmente a un ritmo comparable al de los animales control a los cuales se dio una dieta isocalórica reemplazando el alcohol por sucrosa. En el hígado de las ratas que habían consumido alcohol aparecieron gotas de grasa en el citoplasma del hepatocito al final de la primera semana, las que progresivamente se hicieron mayores. Pero aún después de 12 semanas se pudo observar la ausencia de lagunas grasosas, posiblemente debido a haberseles administrado a estos animales suficiente proteína (16% de las calorías totales de estas dietas), lo que permitió el que hubiese suficiente proliferación de nuevas células hepáticas como para acomodar la gran cantidad de lípidos intracelulares sin que se produjera ruptura celular y consecuentemente la formación de dichas lagunas. Corroborando esta noción se pudo

observar que el hígado de ratas a las que se les administró una cantidad baja de proteínas (6% de las calorías totales) presentaba lagunas grasosas en el término de 4 semanas (Hartroft *et al.*, *Gastroenterology* 50, 392 (1966)).

El cambio ultraestructural más característico observado en estos experimentos crónicos se encontró a nivel de las mitocondrias. En las fases iniciales se observó elongación de estas organelas, las que posteriormente se volvieron tortuosas mostrando ramificaciones. Se pudo observar también mitocondrias monstruosas rodeando porciones del citoplasma conteniendo otras mitocondrias más pequeñas y particularmente glóbulos de grasa. Estas mitocondrias anormales frecuentemente mostraron tendencias a adherirse y formar agrupaciones irregulares. Durante la segunda semana las megamitocondrias pueden llegar a un tamaño aún mayor que el del núcleo. Cuando estas organelas llegan a adquirir este tamaño es obvio que pueden ser observadas con un microscopio corriente. Así ha sido en efecto, habiendo sido descritos por más de un cuarto de siglo, ya que no son otra cosa que los conocidos cuerpos de Mallory del alcoholismo. Con excepción de la presencia de un material de apariencia cristalina en la matriz de la mitocondria en el hígado de humanos alcohólicos, todas las otras alteraciones citoplasmáticas ultraestructurales encontradas en los hepatocitos de estos pacientes han sido duplicadas en animales.

Suplementos de vitamina E administrada a ratas que estaban consumiendo crónicamente dietas líquidas conteniendo alcohol, una alta cantidad de grasas y niveles adecuados de proteína, no modificaron la cantidad de depósitos de triglicéridos en el lobulillo observados en los experimentos de consumo alcohólico agudo (*vide supra*); ni previnieron los cambios ultraestructurales de los hepatocitos.

Experimentos efectuados recientemente en ratas por P.J. Jones (*Am. J. Clin. Nutrition* 16, 381 (1965)) confirman la importancia de imbalances en la dieta como causa importante de la patogénesis del hígado graso del alcohólico. Parece ser que el consumo de alcohol asociado a una dieta normal (relativamente baja en grasa con cantidades normales de proteína) no induce cambios grasosos de significación en el hígado. Bajo estas condiciones el alcohol no puede ser considerado como hepatotóxico. Experimentos recientes con ratas sometidas a una ingesta crónica de alcohol relativamente alta, a la vez que se les daba una "super dieta" con un exceso de proteínas, de vitaminas y de agentes lipotrópicos, demostraron que todas las alteraciones hepáticas podían ser prevenidas de manera efectiva en esta forma (O.R. Koch, Porta, y Hartroft, *Lab. Invest.* 16, 629 (1967)). Aún más, la administración de estas "super dietas" a ratas cirróticas permitió la recuperación funcional y morfológica de algunas de las alteraciones hepáticas a pesar de estas consumiendo cantidades altas de alcohol (A. Takada, Porta y Hartroft, *Am. J. Clin. Nutrition* 20, 213 (1967)).

Nosotros que hemos estado tratando por varios años de dilucidar la complicada patogénesis de la lesión hepática producida por el alcohol, debemos de reconocer humildemente que las lesiones hepáticas observadas en el humano alcohólico no son producidas ni por un efecto tóxico de este "néctar" ni son la consecuencia de una deficiencia única de una vitamina o de uno de los nutrimentos básicos. La historia de la nutrición clínica tiene en sus páginas numerosos ejemplos del fracaso de muchas encuestas, en distintas poblaciones o grupos, que se llevaron a cabo con la intención de descubrir la existencia de enfermedades en el ser humano que fueran producidas por la deficiencia de un solo factor. Se puede decir que prácticamente en todas ellas se ha encontrado que existe una serie compleja de factores involucrados en la etiopatogenia de las mismas, no importa cuál haya sido la raza ni el origen de los individuos. En el caso de los alcohólicos ya es conocido que la neuritis que afecta a estos infortunados seres, puede ser prevenida o corregida por la administración de vitamina B₁. También se sabe en la actualidad

que es el hígado el que primero se altera cuando existe deficiencia de varios de los nutrimentos normales. Dentro de éstos se puede mencionar la colina, la metionina, el selenio, la vitamina E y los ácidos grasos esenciales. Las calorías aportadas por el alcohol no conllevan factores nutritivos accesorios, y cuando se consumen en gran cantidad resultan en situación de que el resto de la dieta por perfecta que ésta sea podrá proveer únicamente una fracción del total de calorías consumidas. En estas condiciones es casi seguro que se desarrollarán deficiencias importantes las cuales se manifestarán, tarde o temprano, en uno o varios órganos (hígado, sistema nervioso o corazón). Nosotros, al igual que otros investigadores hemos pecado en el pasado, en concentrar toda la atención en nuestra "vitamina favorita", olvidándonos que en el alcohólico, así como en la mujer embarazada y aún en el hombre normal, los principios en que se fundamenta una buena nutrición no deben nunca pasarse por alto.

CAPITULO XII

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE MATERIAS TOXICAS PRESENTES
NATURALMENTE EN LOS ALIMENTOS

Olaf Mickelsen, Ph.D.

Sustancias con toxicidad selectiva

Algunas sustancias que se encuentran en la naturaleza pueden ser inocuas en sí, pero bajo ciertas condiciones pueden causar manifestaciones tóxicas. Un ejemplo es la tiramina en alimentos tales como el queso "cheddar" añejado, el vino Chianti y los extractos de levaduras. La toxicidad de la tiramina se manifiesta únicamente en los pacientes que reciben un inhibidor de la monoamino oxidasa, los que luego desarrollan una hipertensión aguda, palpitación y enrojecimiento. En algunos el ataque puede ser tan severo que cause la muerte.

Si la ingestión del hongo *Coprinus atramentarius*, o "gorra de tinta", es seguida por el consumo de una bebida alcohólica, la cara del bebedor, y posiblemente otras partes de su cuerpo, pronto se tornan rojo-violeta (J.M.Kingsburg, *Poisonous Plants of the United States and Canada*, p. 26. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, 1964). La interacción del alcohol y del hongo produce un compuesto relacionado con la acción del "antabus".

La enfermedad celíaca ha sido asociada con la fracción del gluten del trigo, la que produce síntomas tóxicos en esos pocos individuos que son alérgicos a esta sustancia. Hubo un aumento marcado, entre los niños holandeses, de la enfermedad celíaca durante la Segunda Guerra Mundial cuando el trigo volvió a ser, temporalmente, el producto predominante en la dieta (*Nutrition Reviews* 21, 195 (1963)).

Sustancias tóxicas relacionadas con las vitaminas

Ciertos nutrientes esenciales pueden ser tóxicos cuando se consumen en cantidades excesivas. El margen de seguridad varía mucho para los nutrientes y posiblemente entre los individuos. Los posibles efectos tóxicos de las vitaminas A y D se discuten en otra parte de esta publicación. Sin embargo debe mencionarse que parece existir un antagonismo de la vitamina A a la toxicidad de la vitamina D (*Nutrition Reviews*, 20, 315 (1962)). En la rata, los efectos tóxicos de grandes dosis de vitamina D pudieron superarse con dosis igualmente grandes o mayores de vitamina A (en base a U.I.). Estos estudios son de interés, ya que la mejor manera para tratar los síntomas de la toxicidad de la vitamina D es eliminándola de la dieta. Podría el período de recuperación acortarse y el paciente experimentar un restablecimiento mejor si se le dieran grandes cantidades de vitamina A?.

La tiaminasa, en ciertos alimentos, se considera entre las sustancias tóxicas naturales. Esta enzima desdobra la molécula de la tiamina entre los grupos pirimidina y tiazol. Como los animales superiores no pueden recombinar estos dos grupos, el resultado es deficiencia de tiamina.

H.J. Klosterman y sus colaboradores demostraron que la deficiencia de piridoxina, en polluelos alimentados con harina de linaza, se debe a un antagonista que se encuentra en forma natural (para revisión, véase O. Mickelsen y M.G. Yang, *Fed. Proc.* 25, 104 (1966)). Este es uno de los primeros compuestos de este tipo aislados de productos naturales. La potencia del antagonista de la piridoxina para polluelos es igual a la de 4-deoxipiridoxina, y mil veces más activa para el *Azotobacter*.

El dicumarol puede entrar en la clase de los antagonistas. Aislado por primera vez del heno de trébol "fermentado", dicho compuesto inhibe la formación de la protrombina y se forma por oxidación de la cumarina a 4-hidroxycumarina durante la descomposición del heno. Subsiguientemente, dos moléculas de este último compuesto se condensan con formaldehído. La condición hemorrágica asociada con la ingestión de dicumarol se puede remediar o prevenir en la mayoría de los animales con vitamina K. Para el hombre, la vitamina K parece ser más activa que la 2-metil-1,4-naftoquinona para neutralizar una dosis excesiva de dicumarol.

Sustancias tóxicas que interfieren con el metabolismo mineral

El ácido oxálico, que inhibe la utilización eficiente del calcio, se encuentra en concentraciones bastante altas en "Swiss chard" (hojas de remolacha *Beta vulgaris var cicla* desarrollada especialmente para el consumo de las hojas más que la raíz), espinacas, orzaga, hojas de remolacha, caléndula, chual, alazán, verdolaga y ruibarbo. En el chual, alcanza cerca del 37% del peso seco de las hojas. Introducido en Nevada, EE.UU., cerca de 1930, la planta se extendió a la mayor parte de las regiones vecinas semiáridas, y fue posiblemente responsable por la muerte de un gran número de ejemplares de ganado ovino. Entre las técnicas desarrolladas para neutralizar la toxicidad se encuentra la administración de tabletas de alfalfa con 15% de carbonato de calcio a los animales que pastan en áreas severamente infestadas.

Trabajos recientes han demostrado que la absorción de hierro es reducida por una sustancia de tipo proteico presente en ciertas especies de pescado crudo (*Nutrition Reviews*, 19, 143 (1961)).

Los fitatos presentes en una variedad de plantas interfieren con la absorción de muchos minerales produciendo deficiencia. Una de estas deficiencias es la paraqueratosis en los cerdos (*Nutrition Reviews* 15, 334 (1957)). La condición puede remediarse por un agregado adicional de zinc a la ración de harina de soya. En polluelos alimentados con harina de ajonjolí (*Ibid.* 19, 111 (1961)), la deficiencia de zinc se produjo a pesar de la cantidad adecuada de zinc en la ración y del uso de jaulas y abrevaderos galvanizados.

La acción tóxica de los factores bociógenos en una variedad de compuestos puede neutralizarse por agregado de yodo a la ración. Esas sustancias son responsables de la hipertrofia de la tiroides en conejos alimentados con avena, heno y repollo crudo. Una variedad de plantas, incluyendo nabina, semilla de mostaza, col de Bruselas, coliflor, colirrábano o colinabo (*Brassica caulorapa*) y soya han sido señalados como bociógenos para animales de experimentación.

La actividad de estos bociógenos varía según la especie. El propiltiouracilo es 11 veces más potente que el tiouracilo en la rata mientras que en el hombre tiene solamente 3/4 de la potencia del tiouracilo. Para determinar cuales bociógenos puedan ser tóxicos para el hombre, se ha desarrollado una técnica que permite una evaluación rápida de un alimento. Con esta técnica, M.A. Greer y sus colegas demostraron que la rutabaga (naba, nabo sueco, *Brassica campestris*) tiene la más alta actividad bociogénica. Ellos aislaron un bociógeno (2-hidroxi,

3-butenil isotiocianato) el cual existe en esa planta como progoitrina. Esta última sustancia se convierte en una sustancia activa, goitrina, por acción de una enzima, la mirosinasa (Greer, *Rec. Adv. Endocrinol.* 18, 187 (1962)).

A pesar de los esfuerzos por descubrir una relación entre la presencia del bocio endémico con el uso de alimentos bociogénicos, en varias partes del mundo, hay poca evidencia de tal relación ya sea en el hombre o en los animales. Incluso la posible transmisión de los bociógenos por la leche del ganado alimentado con plantas que contienen cantidades considerables de goitrina no presenta problema para la salud (A.I. Virtanen, M. Kreula y M. Kiesvaara, *Z.f. Ernaehrungswiss. Suppl.* 3, 23 (1963)).

Sustancias tóxicas en las legumbres

1. Guisantes. La parálisis espástica, especialmente en las piernas, es uno de los síntomas más tempranos de latirismo en individuos (A.L. Weaver y J. A. Spittell, Jr., *Proc. Mayo Clin.* 39, 485 (1964)) que han consumido grandes cantidades de *Lathyrus sativus*, *L. cicera*, o *L. clymenum*. Estas plantas sobreviven períodos de sequía, por consiguiente, en países como la India, existe una incidencia muy alta de latirismo durante períodos de hambre, cuando hasta el 7% de la población puede encontrarse afectada (*Nutrition Reviews* 25, 231 (1967)).

Se ha informado que los caballos y el ganado desarrollan la parálisis en las áreas donde el latirismo es endémico; sin embargo, la rata parece ser altamente resistente. El hecho de que no haya podido desarrollarse en animales de experimentación una condición análoga al latirismo del hombre, ha impedido el aislamiento del factor responsable. Sin embargo, D.N. Roy, V. Nagarajan y C. Gopalan (*Current Sci.* 32, 117 (1963)) han descrito alteraciones neurológicas en polluelos inyectados con un extracto alcohólico de *L. sativus*.

L. odoratus, el guisante de jardín (guisante de olor), en contraste, es altamente tóxico para las ratas. La toxicidad es la misma que la de dos compuestos relacionados con el beta-(N-gamma-L-glutamil)-aminopropionitrilo originalmente aislado del *L. pusillus* ("singletary pea"). Trabajo posterior demostró que el beta-aminopropionitrilo y el aminoacetónitrilo eran las sustancias activas.

Mientras que el factor tóxico en *L. sativus* afecta el sistema nervioso humano, los dos nitrilos mencionados interfieren en la formación de colágeno. Los nitrilos pueden producir su efecto inhibiendo la incorporación del sulfato, de la glucosa y de la glicina al sulfato de condroitina (M.J. Karnovsky y M.L. Karnovsky, *J. Exp. Med.* 113, 381 (1961)).

2. Habas. La inhalación del polen o la ingestión de *Vicia faba*, cocida o cruda, produce, por medio de un mecanismo desconocido, una anemia hemolítica en individuos con deficiencia de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa y, como resultado, una reducción en los niveles del glutatión de la sangre (W.H. Zinkham, R.E. Lenhard, Jr., y B. Childs, *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 102, 169 (1958)). La ingestión de las habas reduce aún más el contenido del glutatión de los glóbulos rojos, lo cual está asociado con la hemólisis de las células más viejas. Puesto que los glóbulos rojos más jóvenes resisten la hemólisis, los pacientes usualmente se recuperan una vez que la hemólisis severa ha cesado (E. Beutler, en "The Metabolic Basis of Inherited Disease", J.B. Stanbury, J.B. Wyngaarden y D.S. Fredrickson, Editores, McGraw-Hill, New York, 1960).

En ciertas áreas del mundo (El Mediterráneo, Asia o Formosa) la sensibilidad a las habas afecta una buena proporción de la población. No obstante en Formosa, la Comisión Conjunta para Reconstrucción Rural apoya el cultivo de las habas como un constituyente dietético principal y un fertilizante verde (J.-Y. Lin y K.-H. Ling, *J. Formosan Med. Assn.* 61, 484 (1962)). La sustancia tóxica en las habas no ha sido todavía aislada.

3. *Soya*. Las sustancias tóxicas en esta semilla han sido estudiadas extensamente. Los rumiantes, especialmente después de establecerse su microflora, parecen relativamente insensibles a los factores tóxicos. Aunque todos los animales jóvenes monogástricos presentan anormalidades cuando se les administra frijol soya crudo, el polluelo parece adquirir resistencia con la edad; el calentamiento de las semillas mejora el crecimiento.

Se sabía, desde hace algún tiempo, que la adición de cistina a la ración de soya cruda también mejoraba el crecimiento, pero la sugerencia original de que el calentamiento hacía más disponible la cistina y la metionina de las semillas crudas ha sido complicada por trabajos más recientes (para la discusión véase Mickelsen y Yang, *loc. cit.*). Es muy probable que la inhibición del crecimiento asociada con la ingestión de soya cruda se deba a una variedad de factores (*Nutrition Reviews* 23, 346 (1965)). Un informe reciente sugiere que la semilla cruda puede producir disturbios sistémicos que afectan el metabolismo de la metionina (*Ibid.*, *loc. cit.*).

A pesar del número de factores tóxicos en la soya cruda, ninguno de éstos parece tener efecto cuando la harina es debidamente tostada. El alto valor biológico de la harina de soya apropiadamente preparada es una razón por la cual su producción en los Estados Unidos ha crecido tan rápidamente (W.W. Cravens y E. Sipos, en "*Processed Plant Protein Foodstuffs*", A.M. Altschul, Editor, p. 353. Academic Press, New York, 1958).

4. *Otras leguminosas*. En estado crudo, la habichuela, la alubia blanca (habas de Lima, *Phaseolus lunatus* o *limensis*) y variedades diversas de *Phaseolus vulgaris* o judía corriente, "kidney beans" (habichuelas o judías rojas), "navy beans" o judías blancas, "pinto beans", contienen sustancias tóxicas, la mayor parte de las cuales son termolábiles. La administración de estas semillas crudas a ratas no solamente inhibe el crecimiento sino también produce atrofia acinaria del páncreas, degeneración grasa del hígado, atrofia folicular de la tiroides y también hiperqueratosis del esófago y de la piel. Esfuerzos por aislar la sustancia tóxica han resultado en la separación de las propiedades del crecimiento depresivas hemoaglutinantes (*Nutrition Reviews* 24, 121 (1966); M.L. Kakade y R. J. Evans, *Brit. J. Nutrition* 19, 269 (1965)).

Sustancias tóxicas en la semilla de algodón

La toxicidad de la semilla de algodón cruda se debe principalmente al gossipol y en grado mucho menor al ácido estercúlico. Terneros, cobayos, conejos, cerdos y perros, aproximadamente en este orden, parecen ser susceptibles a la toxicidad del gossipol. La rata y aves de corral son mucho menos sensibles.

El ácido estercúlico en el aceite de la semilla de algodón da un color rosado a la clara de huevos producidos por gallinas alimentadas con el aceite o harina que contienen pequeñas cantidades de ese compuesto. Hasta hace poco, el cambio de color era de importancia, principalmente económica, pero un informe sugiere que el ácido estercúlico y grasas relacionadas pueden interferir con la reproducción normal en la rata y aves de corral (A.M. Roscop, E.T. Sheehan y A.R. Kemmerer, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 122, 142 (1966)).

Hongos

Existe una gran variabilidad en la toxicidad atribuida a la misma especie de hongos. Esta variabilidad tiene su origen en: 1. Problemas en clasificación, como es el caso de la *Amanita*, una de las más tóxicas. 2. La sensibilidad puede desarrollarse: algunas especies (*Gyromitra esculenta*) pueden ser consumidos la primera vez sin ningún efecto nocivo, pero la segunda vez producen síntomas de toxicidad. 3. Condiciones bajo las cuales crecen los hongos y en que área geográfica. 4. En muchos casos el principio tóxico es destruido o inactivado cuando las plantas son desecadas o cocidas. 5. Variabilidad individual en sensibilidad; algunas personas son capaces de comer hongos sin consecuencias desfavorables, mientras que otras desarrollan una severa toxicidad consumiendo la misma especie. 6. El grado hasta el cual los hongos han sido procesados y la cantidad consumida.

Las sustancias tóxicas en los hongos varían en estructura química y en los síntomas producidos. Algunos compuestos tóxicos en la *Amanita* son polipéptidos, que contienen varios grupos sustituyentes. Se han preparado antisueros para algunos de estos compuestos y han sido descritos como efectivos, cuando se administran poco tiempo después de la aparición de los síntomas. Otros hongos contienen alcaloides; el más conocido es la muscarina, un derivado de la colina. Aunque la muscarina ha sido aislada de varias especies, existe poca evidencia de que sea ésta la responsable por los síndromes producidos por ingestión de esas plantas (Kingsbury, Op. cit., p. 90).

Los síntomas de toxicidad varían con la especie, así como con el individuo. En muchos casos se presentan vómitos que resultan en una reducción de la cantidad de toxina absorbida. Después de eso, el paciente puede desarrollar un severo dolor abdominal, postración e ictericia. Los síntomas de la intoxicación son altamente característicos para ciertas especies, tales como *Amanita muscaria*. Una actividad aumentada de las glándulas salivares, lacrimales y sudoríparas aparece dentro de un período de media a tres horas. También se observa una copiosa diarrea acuosa, alucinaciones auditivas y visuales, inhibición cardíaca y estimulación del tracto gastrointestinal. Las propiedades alucinantes de este hongo explican su uso por los nativos de ciertas partes de la Rusia Oriental (Kingsbury, Op. cit., p. 94).

Otras toxinas, tales como las de *Amanita phalloides*, ciclopéptidos con la estructura de la tioamida, presumiblemente actúan sobre las membranas celulares. Los síntomas incluyen severos dolores abdominales, náusea y vómitos 10 a 20 horas después de la comida, seguidos por delirio que puede llegar hasta colapso y estupor. Las sustancias tóxicas en *A. phalloides* son termoestables. Se ha preparado un antisuero para estos compuestos, pero su eficacia aún no está comprobada (A. Grollman, "Pharmacology and Therapeutics", p. 338. Lea and Febiger, Philadelphia, 1962).

Sólo algunas especies tienen efectos letales. Entre éstas el *A. phalloides* y especies cercanas relacionadas son las más importantes. Treinta y cinco muertes en los Estados Unidos entre 1924 y 1961, fueron atribuidas al consumo de hongos. Considerando que aproximadamente un número igual de casos no fueron notificados, el número total es probablemente el doble.

Mohos

Las enfermedades causadas por los mohos se han agrupado bajo el término micotoxicosis.

El ergotismo es una de las más antiguas. Desde hace tiempo ha sido asociada con la harina preparada con granos en los cuales ha crecido el moho *Claviceps purpureae*. Han sido encontra-

dos síntomas después de la ingestión de pan hecho con harina preparada de grano que contenía no más de 1% de granos contaminados (*Nutrition Reviews* 20, 237 (1962)). Un número de compuestos, farmacológicamente activos, han sido aislados del cornezuelo de centeno que producen síntomas similares a los observados en la intoxicación ergótica. Aunque es de conocimiento popular que la intoxicación ergótica resulta en aborto, esto no sucede sino cuando se consumen cantidades muy grandes ("dosis peligrosas") de los compuestos activos durante largos períodos.

La importancia de las micotoxicosis en animales ha sido enfatizada por un número de epidemias recientes que pudieron atribuirse al consumo de estas plantas. Un caso que atrajo mucho interés e investigación fue el de cacahuets contaminados con una variedad de *Aspergillus flavus*. (*Nutrition Reviews* 20, 174 (1962); 22, 97 (1964)). Un número de compuestos cristalinos fueron aislados de los cultivos de los mohos en cuestión, de los cuales cuatro han sido identificados, principalmente en base a sus características físicas, y se les ha denominado aflatoxinas (T. Asao et al., *J. Am. Chem. Soc.* 85, 1706 (1963); 87, 882 (1965)).

Esos mohos y sus sustancias tóxicas parecen ser ubicuos. Contaminan al cacahuete, a la harina de semilla de algodón, y probablemente a los names y al maíz (*Nutrition Reviews* 20, 339 (1962); 22, 62, 208, (1964)). Una variedad de condiciones patológicas en animales de granja han sido relacionadas con la presencia de mohos en alimentos, forrajes o camadas. Una de estas es la hiperqueratosis en el ganado que se atribuía inicialmente a un hidrocarburo clorado. Ciertos informes sugieren que un moho del pan (*Aspergillus chevalieri*) puede ser el agente responsable.

Se cree que una enfermedad hemorrágica, que afecta gran número de gallinas ponedoras comerciales, sea causada por una variedad de moho. Por lo menos algunos mohos aislados de gallineros infectados fueron capaces de producir el síndrome al ser incorporados en el alimento de las aves. (*Nutrition Reviews* 20, 339 (1964)).

CAPITULO XIII

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE VITAMINA A

Oswald A. Roels, Ph. D.

Las primeras nociones sobre vitamina A fueron una deducción de observaciones sobre los síntomas que la ausencia de este factor causaba en el humano. La ceguera nocturna, una alteración notable de la visión a baja intensidad de luz, ha preocupado al hombre por miles de años. Es indudablemente, por esta razón, que el proceso visual ha concentrado la atención de los investigadores en el estudio sobre la vitamina A.

Gracias al trabajo de G. Wald (*Vitamins and Hormones* 18, 417 (1960)) y R.A. Morton (*Nature* 153, 69 (1944)) y otros, se ha logrado mucho progreso en nuestra comprensión de esta función específica de la vitamina A. La retina de la mayoría de los vertebrados contiene dos distintos sistemas fotoreceptores. Los bastoncillos son especialmente sensibles a la luz de baja intensidad; los conos son sensibles a la luz de alta intensidad y al color. El retinal es el grupo prostético de los pigmentos fotosensibles de los bastoncillos en vertebrados terrestres y en peces de agua salada, y el 3-dehidro-retinal, en peces de agua dulce.

El mecanismo bioquímico de la visión en los conos es análogo al de la visión en los bastoncillos; los fotoreceptores de ambos sistemas contienen el mismo cromóforo - ya sea retinal ó 3-dehidro-retinal - dependiendo de la especie. La molécula proteica de estos sistemas, sin embargo, no es la misma en los bastoncillos que en los conos, de tal manera que la mayor diferencia entre los pigmentos visuales en cada uno de estos sistemas es la molécula proteica unida al cromóforo.

Las reacciones bioquímicas que ocurren durante la oxidación de retinol a retinal, así como los cambios estereoquímicos en la cadena lateral de la vitamina A durante el proceso visual, han sido estudiados en detalle. *Trans*-retinol es oxidado a *trans*-retinal; este compuesto se isomeriza a la forma 11-*cis* la cual al combinarse con la opsina, forma rodopsina. Después de absorber quanta de la luz el isómero 11-*cis* del retinal o del 3-dehidroretinal es convertido de nuevo a la forma *trans*.

La energía necesaria para hacer posible esta reacción en contra de un gradiente potencial es proporcionada por los quanta de la luz. Este intercambio de energía produce diferencias de potencial, que resultan en una excitación nerviosa la cual es transmitida por el nervio óptico al cerebro, resultando en la sensación visual. La diferencia de potencial causada por la rotura de la molécula de rodopsina cuando absorbe luz, puede ser medida por un electroretinógrafo. Esta medida puede, consecuentemente, ser usada para evaluar el estado nutricional de los animales y del hombre con respecto a vitamina A.

Hay también estudios extensos sobre la absorción, transporte y almacenamiento de la vitamina A en mamíferos.

En la mayoría de los mamíferos, el compuesto que en último término se absorbe del tracto intestinal después de la ingestión de provitaminas A, es la vitamina A propiamente dicha. Hay sin embargo, mucha especificidad de especie en la habilidad de los diferentes mamíferos para absorber los carotenoides de la dieta. El hombre y los bovinos pueden absorber tanto vitamina A como carotenoides, y convertir los carotenoides que tienen actividad de provitamina A en vitamina A. En contraste, la rata y el cerdo no absorben cantidades significativas de pigmentos carotenoides. Sin embargo, estos animales tienen la habilidad de convertir las provitaminas A en la vitamina. El intestino delgado es el órgano más importante en esta conversión, pero otros tejidos son también capaces de llevarla a cabo. En recientes estudios con ^{14}C -beta-caroteno ha sido demostrado que, por perfusión a través de hígado aislado de rata, este compuesto se convierte en ésteres de retinol (*Nutrition Reviews* 21, 238 (1963)). La absorción de las provitaminas A del intestino está afectada por varios factores. El nivel de grasa en la dieta es un factor importante en la absorción de carotenoides en el hombre. Por ejemplo, en Ruanda y Urundi (Africa Central) la grasa constituye menos del 7% de la ingesta calórica total y, a pesar de que la dieta contiene abundantes cantidades de carotenoides, éstos son tan ineficientemente absorbidos que la deficiencia de vitamina A es muy frecuente en niños pequeños. Pequeños suplementos de grasa mejoran notablemente la absorción intestinal en estos niños, aumentando los niveles séricos de vitamina A, y aliviando al mismo tiempo los síntomas de deficiencia.

Ácidos biliares conjugados, con un radical hidróxilo libre, tienen un efecto estimulante sobre la absorción de caroteno así como sobre la ruptura de la molécula de caroteno en intestino de pollo, hámster, rata y conejo. Dietas bajas en proteínas reducen la absorción intestinal de vitamina A y de sus ésteres.

La absorción y el transporte de la vitamina A pueden resumirse en la forma siguiente: Los ésteres de retinol de la dieta son hidrolizados en el lumen intestinal antes de atravesar la pared de la mucosa de la célula intestinal. El retinol presente en los alimentos o el que resulta de la hidrólisis de sus ésteres atraviesa esta pared celular y es reesterificado en el interior de la célula de la mucosa, preferentemente con ácido palmítico. El palmitato de retinol es transportado en los quilomicrones a través del sistema linfático, vía el conducto torácico, hacia el torrente circulatorio, y luego almacenado en el hígado. El éster de retinol es hidrolizado en el tejido hepático por una enzima; el retinol libre pasa entonces, vía el torrente circulatorio, a los tejidos para satisfacer el requerimiento metabólico de éstos. El retinol es movilizado del hígado manteniendo así el nivel sanguíneo aún con una dieta sin vitamina A, hasta que todas las reservas hepáticas han sido agotadas.

Como la mayor parte de los otros lípidos, la vitamina A y las provitaminas A son transportadas en forma de lipoproteínas. Los ésteres de retinol se encuentran principalmente en la fracción lipoproteica Sf 10-100 de la sangre. Veinte por ciento del retinol libre está presente en el suero asociado con la fracción de lipoproteínas Sf 3-9, la cual es portadora también de alrededor del 80% del beta-caroteno y del licopeno del suero humano. En vista de que los ésteres de retinol son transportados del intestino al torrente circulatorio en forma de quilomicrones (Sf > 400), la vida media de estos ésteres en los quilomicrones debe necesariamente ser corta.

El retinol, el retinal y los ésteres de retinol no son las únicas formas activas. El *trans*-retinal tiene alrededor del 90% de la actividad del acetato de retinol en cuanto a funciones afuera del ciclo visual. La potencia biológica del retinal afuera del ciclo visual parece depender enteramente de su reducción enzimática a retinol: Muchos tejidos animales contienen una enzima capaz de catalizar esta reducción. En 1946, D.A. Van Dorp y J.F. Arens (*Rec. Trav. Chim.* 65, 338 (1946)) sintetizaron ácido retinoico y demostraron que este compuesto puede mantener

el crecimiento en ratas deficientes de vitamina A. Cuando el ácido retinoico es administrado a ratas jóvenes como parte de una dieta que carece de cualquier otra forma de vitamina A, los animales crecen normalmente pero pronto desarrollan ceguera nocturna, finalmente se vuelven completamente ciegos, y pierden la capacidad reproductora. Parece que el ácido retinoico puede ser transformado en otros compuestos con actividad de vitamina A, jugando un papel esencial en el metabolismo animal.

Un derivado del ácido retinoico posiblemente el glucuronato, fue recientemente descubierto en la circulación entero-hepática de la rata. El epóxido de retinal, biológicamente activo, ha sido también sintetizado.

Las investigaciones encaminadas a descubrir una función general de la vitamina A, además de su función en la retina, se concentraron primero en el papel que esta vitamina tiene en la queratinización, cornificación y formación de mucus. La vitamina parece necesaria para la formación de las células secretoras de mucus, las cuales sintetizan glucoproteínas, y contienen mucopolisacáridos. En la deficiencia de vitamina A la queratinización está más pronunciada y la formación de estas células está disminuida.

La queratinización es un proceso requerido para la formación de componentes de las estructuras inertes del cuerpo. Los cambios en los huesos, observados tanto en deficiencia de vitamina A como en hipervitaminosis A, están asociados con cambios en el sulfato de condroitina. Todas estas observaciones señalan el posible papel de la vitamina en la síntesis de las mucoproteínas y quizás en la síntesis de la molécula de mucopolisacáridos de las mucoproteínas. Todavía existe controversia sobre el efecto de la vitamina A en la incorporación de sulfato en mucopolisacáridos y en la activación del sulfato para formar 3'-fosfo-adenosina-5'-fosfo-sulfato.

En ratas deficientes en vitamina A se ha observado una excreción urinaria aumentada de sulfato inorgánico. La formación de sulfato de paranitrofenol por sobrenadantes de hígado de rata está reducida en deficiencia de vitamina A. Sin embargo, informes recientes señalan un marcado aumento en la actividad de las sulfatasas de los lisosomas en el hígado de ratas deficientes, acoplada con un incremento en la liberación de hidrolasas ácidas de estas partículas subcelulares, lo cual sugiere que la aparente reducción en la incorporación de sulfato puede ser debida en realidad a un aumento en la actividad de las sulfatasas. Es posible que la vitamina A juegue un papel en el metabolismo de los polisacáridos, pero en vista de que la síntesis y degradación de éstos ocurre simultáneamente, el resultado neto dependerá de las velocidades relativas de estos dos procesos.

Observaciones de E. Mellanby indican que la hipervitaminosis A causa lesiones en los huesos y nervios en animales (*J. Physiol.* 101, 408 (1942-1943)). Estas observaciones fueron seguidas por experimentos en cultivo de tejido que indicaron que el agregado de dosis grandes de vitamina A al medio causaron un paro en el crecimiento y una desintegración del cartílago óseo (*ver Nutrition Reviews* 10, 343 (1952)). H.B. Fell y colaboradores encontraron más tarde que un exceso de vitamina A agregado al medio disuelve el sulfato de condroitina del cartílago. Este efecto es debido a la ruptura de las membranas de los lisosomas, con liberación de hidrolasas ácidas de estas partículas hacia el medio. Como consecuencia estas hidrolasas causan desintegración tisular (*Nutrition Reviews* 20, 161 (1962)).

Se ha observado el mismo efecto en diferentes especies, y trabajos recientes han mostrado que los lisosomas del hígado de ratas deficientes en vitamina A también se vuelven muy lábiles. Concentraciones normales de vitamina A aseguran la óptima estabilidad de estas partículas

pero altas dosis aumentan la fragilidad de la membrana de las mismas tanto *in vivo* como *in vitro*. Este efecto opera también en muchos sistemas diferentes de membranas celulares, tales como la del eritrocito y la de la mitocondria.

Referente al metabolismo de los carbohidratos, se ha encontrado que la deficiencia de la vitamina A no altera el ciclo del ácido tricarboxílico. La biosíntesis de glucógeno a partir de acetato, lactato y glicerol parece sin embargo, estar disminuída, alteración que puede ser corregida por administración de cortisona.

La interacción entre el grupo de compuestos de la vitamina A y otros lípidos ha sido también estudiada extensamente. El metabolismo de la vitamina A está ligado al de la coenzima Q, vitamina E, vitamina D, esteroides, así como a la biosíntesis del escualeno. La interacción entre las vitaminas A y E parece ser de importancia en la regulación de la estabilidad de las membranas biológicas (O.A. Roels, M. Trout, y A. Guha, *Biochem. J.* 97, 353 (1965)). Morton y sus colaboradores encontraron que la ubiquinona (Coenzima Q) aumenta en el hígado de ratas deficientes en vitamina A (*Nutrition Reviews* 19, 218 (1961)). La deficiencia de vitamina A incrementa la síntesis del escualeno y de la ubiquinona y reduce la síntesis del colesterol en hígado de ratas.

Se ha demostrado que la utilización de las reservas hepáticas de vitamina A es directamente proporcional a la ingesta proteica cuando los animales son alimentados con una dieta baja en esta vitamina. Dietas bajas en proteína retardan la aparición de síntomas de deficiencia. Varios estudios han señalado que la vitamina A influencia la síntesis de las proteínas séricas y del músculo. No se sabe si este efecto es directo o indirecto..

La malnutrición proteica y la deficiencia de vitamina A son probablemente las dos enfermedades por deficiencia nutricional más comunes en el mundo al presente. Con frecuencia ambas ocurren simultáneamente, a menudo con resultados fatales..

Pacientes con kwashiorkor muestran comúnmente niveles séricos muy bajos de vitamina A. Cuando a éstos se les administran adecuadas proteínas dietéticas los niveles suben sin la administración de vitamina A, siempre que hayan suficientes reservas hepáticas. Esta observación es de máxima importancia en relación a la nutrición de niños en áreas en donde hay una alta incidencia de kwashiorkor y el estado nutricional con respecto a vitamina A es marginal. El uso frecuente de suplementos de leche descremada en el tratamiento de kwashiorkor, el cual resulta en un aumento en el requerimiento de vitamina A, puede movilizar las últimas reservas hepáticas de la misma y como consecuencia precipitar la deficiencia de esta vitamina. Esto no debe tomarse como una razón en contra de la administración de una proteína de alta calidad a niños con kwashiorkor; pero hace énfasis sobre la necesidad de suplementar la dieta terapéutica con vitamina A.

Excesos de vitamina A pueden tener muy serios efectos tanto en el hombre como en los animales. La forma aguda de intoxicación por vitamina A ha sido observada en personas que han ingerido una alta dosis de vitamina, o grandes cantidades de hígado de oso polar. Hipervitaminosis A crónica se observa en pacientes que reciben altas dosis para tratamiento de condiciones dermatológicas y continúan subsecuentemente esta ingesta sin supervisión médica. También se han encontrado casos severos de hipervitaminosis A entre personas con costumbres alimentarias peculiares que incluyen excesivas dosis de vitamina A en su dieta diaria..

Una gran variedad de signos y síntomas pueden ser observados. Fatiga, malestar y letargo son dolencias comunes, frecuentemente acompañadas por uno o más de los siguientes síntomas:

molestias abdominales, dolores en los huesos y articulaciones, cefalea severa, insomnio y nerviosismo, sudoración nocturna, pérdida del ~~V~~ello cutáneo y uñas quebradizas. Otros síntomas pueden ser xeroftalmia, edema periferal y pigmentación serosa amarilla de la planta del pie, de la palma de la mano y del pliegue naso-labial por deposición de carotenoides. También se ha descrito un aumento de presión intracraneal y del fluido de la médula espinal. En terneros la hipervitaminosis A resulta también en hidrocefalia y alteración en la presión del fluido de la médula espinal.

El problema más serio desde el punto de vista de salud pública es, sin embargo, la deficiencia de esta vitamina. La seriedad y consecuencias clínicas de este problema principalmente en niños pequeños en muchas regiones del mundo, han sido enfatizadas en un informe publicado recientemente (H.A. Oomen, D.S. McLaren, y U. Escapini, *Trop. Geograph. Med.* 16, 271 (1964)). Los autores de este informe concluyen que la xeroftalmia continúa siendo un problema de máxima importancia en muchas partes del mundo, especialmente en centros urbanos en rápido crecimiento en el Oriente, tales como Hong Kong, Yakarta, Manila, Saigón y Dacca.

La xeroftalmia es una causa principal de ceguera en la niñez y sin embargo, la deficiencia de vitamina A es principalmente resultado de ignorancia. Fuentes ricas de provitamina A están frecuentemente disponibles y son de poco o ningún costo para las familias en áreas donde la deficiencia es prevalente. En consecuencia, la educación nutricional puede jugar un papel importante en la erradicación de esta enfermedad. Es posible administrar una sola dosis alta de la vitamina A por vía intramuscular, intravenosa u oral, y obtener buenas reservas hepáticas. Estas protegen al niño por un período relativamente largo de tiempo de los resultados desastrosos de una inadecuada ingesta dietética.

El palmitato de vitamina A se obtiene ahora comercialmente siendo su costo aproximadamente cinco centavos de dólar (E.U.A.) por un millón de U.I. En vista de que el requerimiento diario de un adulto es alrededor de 3,000 U.I. es evidente que la provisión del requerimiento total anual de un individuo costaría alrededor de cinco centavos. Es verdaderamente sorprendente, en vista de esto, que la deficiencia de vitamina A continúe siendo una de las formas más generalizadas de mala nutrición humana, con sus incalculables consecuencias de miseria social e individual.

CAPITULO XIV

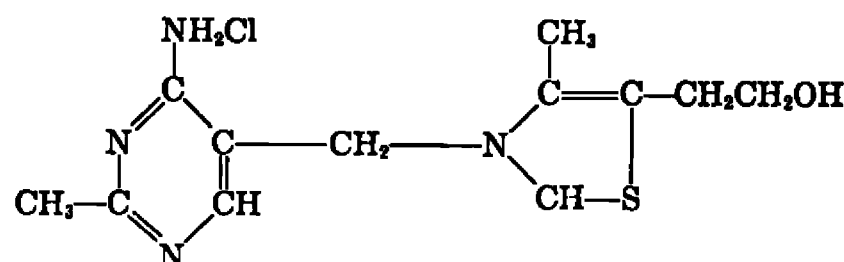
CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE LA TIAMINA

Michael C. Latham, M.B., M.P.H., D.T.M. & H.

La síntesis de tiamina y la determinación de su fórmula fueron logradas por R.R. Williams y J.K. Kline (J. Am. Chem. Soc. 59, 1504 (1936)). Se encontró que el hidrocloreto de tiamina consistía de un anillo de pirimidina ligado por un puente metilénico a un núcleo peculiar de tiazol. La composición es $C_{12}H_{18}N_4OSCl_2$ con la siguiente estructura química:

La unión entre los dos anillos es débil, por lo cual el compuesto se destruye fácilmente, especialmente en un medio alcalino. Es el único compuesto sintetizado por seres vivos con un anillo de tiazol.

El hidrocloreto de tiamina se presenta en cristales con espículas. Es muy soluble en agua y por lo tanto se pierde fácilmente cuando los alimentos se lavan o hierven.



Un producto importante en el metabolismo de la glucosa es el ácido pirúvico, el cual, en ausencia de oxígeno, se reduce a ácido láctico. Durante el ejercicio el ácido láctico se acumula en los músculos y pasa a los fluidos corporales. En presencia de oxígeno, este ácido láctico se oxida para de nuevo formar ácido pirúvico. El ácido pirúvico por medio de una descarboxilación oxidativa forma acetil-CoA, la cual entra al ciclo del ácido tricarboxílico (ciclo de Krebs).

De interés en el campo de la nutrición es el hecho de que la tiamina forma parte de la coenzima responsable de esta descarboxilación. La tiamina es necesaria en la dieta para la formación de cocarboxilasa. Sin la cocarboxilasa el ácido pirúvico se acumula en varios tejidos. Antes de actuar como una coenzima, la tiamina debe ser fosforilada. La cocarboxilasa, que realmente es el pirofosfato de tiamina, actúa con el nucleótido de la difosfopiridina que contiene ácido nicotínico), la coenzima A (que contiene ácido pantoténico), y ácido lipoico, para descarboxilar el ácido pirúvico por medio de oxidación y formar acetil-coenzima A.

Otra función del pirofosfato de tiamina consiste en la descarboxilación oxidativa del ácido alfa-quetoglutarico. El pirofosfato de tiamina es además la coenzima en la reacción de la trans-quetolasa.

La tiamina se puede determinar por medio de métodos químicos, biológicos, bioquímicos y microbiológicos. Los primeros métodos fueron los biológicos, usando palomas, pollos, ratas y algunas veces otros animales. Los ensayos microbiológicos han hecho uso del *Phycomyces blakesleeanus* o del *Lactobacillus fermentum*. Otros investigadores han usado un método basado

en la fermentación de levaduras. Sin embargo, las determinaciones más usadas son modificaciones del método básico del tiocromo que consisten en la oxidación de la tiamina para formar tiocromo, el cual se mide fluorométrica o colorimétricamente. Este método es bastante exacto y de rápida ejecución.

H. Baker, O. Frank, J.J. Fennelly, y C.M. Leevy (*Am. J. Clin. Nutrition* 14, 197 (1965)) , recientemente sugirieron el uso del protozoo flagelado *Ochromonas danica*. Este organismo tiene un requerimiento de tiamina sensible y específico, y se ha usado para determinaciones en sangre, suero, líquido céfalo-raquídeo, orina, músculos e hígado. Da resultados cualitativos en 2 días y cuantitativos en 5 días.

Más controversial que los métodos de determinación en sí es la evaluación de la deficiencia de tiamina temprana o marginal en el hombre. Las determinaciones de los niveles sanguíneos de tiamina y de pirofosfato de tiamina tienen un valor limitado, ya que aún en presencia de manifestaciones clínicas de beriberi, sólo se reducen levemente. Se ha sugerido que niveles de tiamina en sangre total de menos de 3.0 mcg/100 ml, en ausencia de anemia, deben considerarse como indicativos de deficiencia.

La deficiencia de tiamina resulta en una elevación del ácido pirúvico en la sangre. Por consiguiente, los niveles de piruvato sanguíneo se han usado para la determinación de la deficiencia de tiamina (W.N. Pearson, *Am. J. Clin. Nutrition* 11, 462 (1962)). M.K. Horwitt y O. Kreisler (*J. Nutrition* 37, 411 (1949)) llegaron a la conclusión de que el estudio de lactato y piruvato sanguíneos tienen poco valor diagnóstico en deficiencias leves. Estos autores desarrollaron un método que mide ácido láctico y pirúvico después de una administración de glucosa y ejercicio.

Pearson asegura que al presente, el índice bioquímico de más valor para estimar el nivel de ingesta en grupos de población es la excreción urinaria de tiamina, la cual usualmente se expresa por gramo de creatinina. Basado en encuestas en muchos países el ICNND, ha sugerido guías de interpretación de niveles de excreción para adultos. Sin embargo, faltan todavía estándares adecuados para niños.

Aunque los niveles urinarios de tiamina sean de utilidad en encuestas nutricionales, no es una medida adecuada de deficiencia de tiamina a nivel individual. Los niveles urinarios se reducen rápidamente al reducirse la ingesta, y mucho antes de que ocurra agotamiento de la vitamina tisular. El riñón no tiene umbral para la retención de tiamina y por lo tanto, no son aplicables las pruebas de tolerancia. La tiamina administrada por vía endovenosa se pierde por la orina aún en personas con deficiencia de la vitamina.

Se ha desarrollado una nueva determinación usando eritrocitos, basada en la relación específica que existe entre el estado nutricional de tiamina y la actividad de la transquetolasa a nivel celular (M. Brin, *Am. J. Clin. Nutrition* 12, 107 (1963)). Es obvia la ventaja de usar un tejido fácilmente obtenible como el glóbulo rojo. Brin postula que dos sujetos pueden tener niveles de tiamina en los tejidos o en la orina muy diferentes, pero ambos pueden tener suficiente tiamina para adecuada actividad enzimática. El metabolismo tisular no comienza a sufrir sino hasta que los niveles de los cofactores enzimáticos sean inadecuados. La actividad de la transquetolasa en los eritrocitos pueden ser de utilidad en la evaluación de la adecuación de tiamina para el metabolismo celular.

En un estudio reciente (Z.Z. Ziporin *et al.*, *J. Nutrition* 85, 287 (1965)), se midió la excreción de tiamina y de sus metabolitos en la orina en individuos con una ingesta restringida en esta vitamina. Se encontró una reducción muy rápida en la excreción de tiamina. Estos autores consideran que la tiamina en la orina representa el excedente no utilizado por el organismo y por consiguiente, no refleja la magnitud de las reservas. Los metabolitos que se excretan en la orina sí deben considerarse como indicadores de tiamina utilizada. Por otra parte, la actividad de la transquetolasa mide la cantidad de tiamina en la sangre y refleja la cantidad de tiamina en algunos tejidos como el hígado, el riñón y el músculo. En tal forma, aunque ambas determinaciones miden esta vitamina en diferentes medios o tejidos, cada una indica diferentes aspectos del estado nutricional de tiamina.

Por medio de la medición de metabolitos de tiamina en la orina de hombres adultos con una ingesta restringida (Ziporin *et al.*, *loc. cit.*), se ha tratado de evaluar los requerimientos humanos de esta vitamina. Estos autores consideran que cuando la tiamina desaparece en la orina, los metabolitos indican la cantidad de la vitamina tomada de los almacenes tisulares y utilizada para satisfacer las necesidades metabólicas. En esta forma calcularon el requerimiento de tiamina en 0.27 ó 0.33 mg por 1000 calorías, dependiendo de si la pequeña cantidad ingerida se substrahe o no de la excreción metabólica. Este trabajo no se ha replicado aún en mujeres ni en niños.

Por medio de estudios en animales de laboratorio y en el hombre se ha demostrado que los requerimientos dietéticos de tiamina varían con la composición de la dieta. Los carbohidratos son los más importantes en este sentido, y una dieta en la cual la mayoría de las calorías provienen de grasas, puede resultar en una reducción de los requerimientos de esta vitamina. Esto se puede deber a una reducción del requerimiento metabólico de tiamina cuando la energía proviene de nutrientes que no sean carbohidratos. Sin embargo, no explica los requerimientos menores de tiamina en presencia de algunos carbohidratos y antibióticos.

La rata, por ejemplo, desarrolla signos de deficiencia de tiamina más pronto, cuando el carbohidrato usado es glucosa o sucrosa que con almidón de papa. También se reduce el requerimiento de tiamina cuando se agregan a la dieta sulfas, penicilina y antibióticos similares. Estos datos han llevado al estudio de la microflora intestinal como posible fuente adicional de tiamina. Se ha sugerido que los antibióticos causan una supresión relativa de algunos microorganismos y la proliferación de otros, con el resultado de un aumento en la síntesis de tiamina (o menor destrucción) sin alteración en su absorción o utilización tisular.

M.C. Nath y S.K. Meghal (*Biochem. J.* 81, 220 (1961)) demostraron que ratas alimentadas con dietas deficientes en tiamina pero que estimulan el crecimiento de la microflora intestinal, no desarrollan deficiencia. La sucrosa y la glucosa en la dieta, reducen los recuentos de bacterias coliformes en las heces y no protegen a los animales contra la deficiencia de tiamina. Meghal y Nath, (*Brit. J. Nutrition* 19, 189 (1965)) también sugieren que una marcada alteración del contenido de grasas de una dieta pueda afectar la producción microbiana de vitaminas. Estos autores concluyen que una dieta alta en grasas aumenta la síntesis de tiamina en el intestino de ratas deficientes en esta vitamina, y que el grado del aumento depende de la saturación de las grasas y de la presencia de ácidos grasos esenciales. Se ha asumido que este aumento en la síntesis, está asociado con un aumento en la población de microorganismos. Existen pues, investigadores que favorecen el mecanismo microbiológico en contraposición al metabólico para explicar el efecto de las grasas de reducir los requerimientos de tiamina.

El efecto de algunos derivados de los carbohidratos como el sorbitol, y de antibióticos, probablemente se debe a incremento en la síntesis microbiana de tiamina en el intestino, su excreción en las heces, y la ingestión de éstas por las ratas (T.B. Morgan y J. Yudkin, *Vitamins and*

Hormones 20, 39 (1962)). Evitando la coprofagia, no se observa el efecto de la penicilina (M.S. Mameesh, R.E. Webb, A.W. Norton y B.C. Johnson, *J. Nutrition* 69, 81 (1959)). y del sorbitol (Morgan y Yudkin, *Nature* 184, 909 (1959)).

Yudkin (*J. Nutrition* 81, 183 (1963)) mostró que ratas alimentadas con una dieta libre de tiamina, sobreviven por más tiempo si tienen libre acceso a sus excrementos. Concluyó que la mayor parte, si no toda la tiamina, era absorbida. Sin embargo, B.S. Wostmann y P.L. Knight (*J. Nutrition* 74, 103 (1961)) habían sugerido antes que la absorción de la tiamina sintetizada por la flora intestinal, es muy poca o nula, aún después de coprofagia.

Estos autores usaron S^{35} y midieron la absorción de tiamina radioactiva en el corazón y en los músculos. Encontraron que la mayor parte de la tiamina se sintetiza en el ciego. Encontraron también que la flora intestinal incorpora este azufre radioactivo a la molécula de tiamina sintetizada *in situ*. Pudiera ser que las ratas usadas en estos experimentos no consumieran suficientes cantidades de sus heces, o que la tiamina ingerida de esta fuente constituyó solamente una parte pequeña de su ingesta total.

En algunos pescados crudos existe una enzima, la tiaminasa, que es capaz de destruir la tiamina. En el hombre, el consumo de almejas crudas, reduce la disponibilidad de tiamina en aproximadamente un 50%. Existe cada vez más evidencia que las tiaminasas están bastante distribuidas, habiéndose encontrado en pescados, musgos, bacterias y organismos semejantes. R. Hayashi (ver *Nutrition Reviews* 15, 65 (1957)) no cree que la tiaminasa de las bacterias tenga importancia nutricional con excepción de algunas como las de *B. thiaminolyticus*, *B. aneurinolyticus*, y *Cl. thiaminolyticus*. La tiaminasa rompe la molécula de tiamina en dos partes, la pirimidina y el tiazol.

Durante la última década no ha habido nuevas contribuciones a nuestros conocimientos sobre el beriberi. Ambas formas, el beriberi húmedo (cardiovascular) y el seco (neurítico) se han atribuido a la deficiencia de varias vitaminas, pero ahora se considera que la deficiencia de tiamina es el factor principal. Existen buenas descripciones clínicas del beriberi, inclusive del beriberi infantil, en libros de texto sobre nutrición y medicina interna y por lo tanto, no es necesario repetirlas aquí.

El beriberi aumentó apreciablemente durante el siglo pasado con la introducción de los molinos de arroz por toda Asia, produciendo arroz altamente pulido para la gente pobre, a un costo no mayor que el arroz beneficiado por medios caseros, pero a costa de muchos miles de vidas. Las harinas altamente refinadas y blancas, se están popularizando en muchos de los países africanos (M.C. Latham, *Human Nutrition in Tropical Africa*, FAO, Roma, 1965).

Algunos autores consideran que con el maíz realmente no existe problema. Sin embargo, la harina de maíz altamente refinada como la que se vende en la mayor parte del Africa Oriental, contiene solamente 0.05 mg. de tiamina por 100 gms., comparada con 0.06 mg. por 100 gramos de arroz pulido como el consumido en las áreas endémicas de beriberi del Lejano Oriente. En la harina de maíz altamente refinada, el contenido de riboflavina es similar al del arroz y el contenido de niacina es menor. Pensando en futuros problemas, algunos países africanos están contemplando leyes para asegurar el contenido adecuado de vitaminas en las harinas de cereales. (Latham, *Proceedings of Sixth International Congress of Nutrition*, 449. Livingstone, Edinburgh, 1965). Es obvio que el enriquecimiento de las harinas de cereales es más fácil que el del arroz, el cual usualmente se compra en forma de grano. No existe aún unanimidad sobre la mejor forma de prevenir el beriberi en las áreas que consumen arroz. R.J. Williams (*Towards the Conquest of Beriberi*. Harvard University Press, Cambridge, Mass., 1961) ha mantenido que el enriqueci-

miento debe hacerse por medio de pre-mezclas, mientras que un comité de la FAO (FAO Nutrition Studies No. 12, Roma, 1954), ha sido más cauteloso en sus recomendaciones.

En una discusión sobre la disponibilidad de nutrimentos por persona en los Estados Unidos, Oris V. Wells (ver *Nutrition Reviews* 17, 161 (1959)) encuentra una cifra de 1.79 mg. de tiamina, inclusive aquella agregada a cereales, harina blanca y pan. Estos datos también muestran una disponibilidad uniforme de tiamina en la dieta de todos los grupos económicos.

Durante las últimas décadas, la producción industrial de tiamina ha aumentado grandemente. El proceso sintético generalmente comprende la síntesis separada del tiazol y de la pirimidina seguida del acoplamiento de las dos moléculas. Además de las demandas médicas y farmacéuticas, la industria de alimentos consume cantidades grandes de tiamina para la fortificación de alimentos. Existe también una alta prevalencia del uso de vitaminas sin receta médica. Muchos médicos tienden a sobre-recetar la tiamina, considerándola como una panacea para toda clase de dolores neurológicos. En realidad, las condiciones en que la tiamina puede jugar un papel importante, son limitadas. Afortunadamente, el organismo tiene la capacidad de eliminar fácilmente los excesos de tiamina.

J.A. Campbell y A.B. Morrison (*Am. J. Clin. Nutrition* 12, 162 (1963)) han mostrado que la cantidad excretada está determinada por la cantidad ingerida. Dosis orales por encima de 2.5 mg. aparentemente se absorben ineficientemente, y probablemente no se justifica el uso de tan altas dosis con fines terapéuticos. Las dosis divididas se absorben mucho más que una dosis única grande. Se cree que la mayor parte de la absorción ocurre en el tracto intestinal superior.

Se ha encontrado que la aliltiamina se absorbe con mayor rapidez que la tiamina misma y que resulta en niveles sanguíneos más altos con mayor rapidez. Se ha experimentado en animales y humanos con la di-tiopropiltiamina, un compuesto con la misma estructura que la aliltiamina, pero con un grupo propilo en lugar del grupo alilo (*Nutrition Reviews* 18, 181 (1960)). La di-tiopropiltiamina por su rápida absorción, produce niveles sanguíneos más altos de tiamina y de co-carboxilasa hepática y con mayor rapidez que la tiamina misma.

En los Estados Unidos la deficiencia de tiamina no es poco común, y se presenta preponderantemente en los alcohólicos. El alcoholismo es cada vez más prevalente y se ha establecido que varias de sus características clínicas, antes consideradas como resultado de la toxicidad del alcohol, son en realidad debidas a deficiencias nutricionales.

La enfermedad de Wernicke se caracteriza por signos oculares (nistagmo, diplopia, parálisis del músculo recto externo y a veces oftalmoplegia), así como por ataxia y cambios mentales. La psicosis de Korsakoff conduce a pérdida de la memoria para eventos inmediatos y usualmente a confabulaciones para encubrir esta amnesia. Existe acuerdo general sobre el paciente alcohólico, la distinción entre la enfermedad de Wernicke y la psicosis de Korsakoff es artificial. La última puede considerarse como el elemento psicótico de la primera (M. Victor y R.D. Adams, *Am. J. Clin. Nutrition* 9, 379 (1961)). Estos autores también informan que en 62 de 72 pacientes con parálisis ocular, ataxia y confusión (y que sobrevivieron por más de unos pocos días), la amnesia de la psicosis de Korsakoff se hizo finalmente evidente.

En pacientes de dos hospitales estatales con psicosis de Korsakoff, las secuelas de la enfermedad de Wernicke se encontraron aún años después. Desde el punto de vista patológico tam-

bién existen indicaciones de la unidad de estas dos enfermedades. Con tratamiento temprano, los signos del síndrome Wernicke-Korsakoff desaparecen con solamente tiamina, aún cuando el consumo de alcohol continúe.

De enorme importancia en este síndrome es el hecho de que el daño cerebral irreversible se presenta rápidamente, por lo cual los diagnósticos y tratamientos precoces son de vital importancia. Su prevención requiere ingeniosas medidas de salud pública. Se han sugerido varias posibilidades de prevención, tales como el enriquecimiento de bebidas alcohólicas con tiamina, la "inmunización" de alcohólicos con tiamina inyectada y el desarrollo de un vehículo adecuado para inyecciones de absorción lenta reduciendo la necesidad de inyecciones frecuentes, y la disponibilidad de bocadillos impregnados con tiamina en las cantinas. El costo de cualquiera de estas medidas ciertamente sería menor que el alto costo de mantener a los pacientes que han sido afectados por la enfermedad de Wernicke-Korsakoff.

La polineuropatía alcohólica, parecida al beriberi neurítico, es también una enfermedad debida, en general, a deficiencia de tiamina.

La ambliopía alcohólica es similar a una condición observada en los campos de prisioneros de guerra. En ambas se han encontrado escotomas centrales y se ha implicado la deficiencia de tiamina.

No se ha resuelto aún el papel de la tiamina en asociación con el ácido pantoténico, la riboflavina, la vitamina B₆ y otras, como causa del "síndrome de los pies ardientes" ó "burning feet syndrome". (J.H. Walters, *Tr. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 60, 128 (1966)). Las neuropatías espinales que se han descrito en Africa Occidental y en prisioneros de guerra en el Lejano Oriente, pueden ser debidas a deficiencias de vitaminas del grupo B, pero no se ha podido probar que resulten de deficiencia de tiamina solamente. En una epidemia de neuropatía atáxica en una prisión en el Africa Oriental, Latham (*Brit. J. Nutrition* 18, 129 (1964)) mostró que la dieta de los prisioneros contenía menos de 0.4 mg. de tiamina por 1000 calorías, pero además, esta dieta también era deficiente en otras vitaminas. No sería sorprendente encontrar varias deficiencias como responsables de un solo síndrome neurológico. El sistema nervioso es, en efecto, un mecanismo finamente ajustado que utiliza un gran número de sistemas enzimáticos para controlar su aporte de energía. Los grupos protéticos de estas enzimas contienen algunas de un grupo de vitaminas.

Se puede predecir que en los próximos años se elucidarán muchas interrelaciones entre las vitaminas. Es concebible que se descubra que ciertos síndromes se deben a una cierta "mezcla" de vitaminas en personas con dietas inadecuadas y que algunos alimentos básicos favorezcan estas "mezclas" conduciendo a síndromes de deficiencia. Esto podría explicar las diferencias clínicas entre diferentes áreas geográficas y grupos de población. Es de esperarse que los grandes avances que se están logrando en la elucidación de las propiedades químicas y de las funciones enzimáticas de vitaminas como la tiamina, van a aclarar no solamente su actividad fisiológica, sino también complementadas con estudios dietéticos y clínicos en humanos, la etiología precisa de varias enfermedades y síndromes debidos a deficiencias nutricionales.

CAPITULO XV

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE LA RIBOFLAVINA

Olaf Mickelsen, Ph.D.

En la encuesta realizada en los Estados Unidos en 1955 por el Departamento de Agricultura (U.S. Department of Agriculture Household Food Consumption Survey of 1955), se encontró una ingesta promedio de 2.0 a 2.5 mg. de riboflavina por persona por día. El aumento sobre el consumo encontrado en 1936 se puede atribuir al advenimiento de los cereales enriquecidos y a un consumo mayor de leche y carne. Además, se encontró cierta relación directa entre la ingesta de riboflavina y el ingreso familiar. Aunque esta ingesta es mayor que la recomendada en 1964 por el "Food and Nutrition Board", existen algunas limitaciones en su interpretación.

En muchos países la ingesta de riboflavina es frecuentemente limitada, y la arriboflavinosis sigue siendo una deficiencia nutricional común. Es una de las más frecuentes en el Congo, y ha sido revelada en muchos países subdesarrollados, tanto en la población civil como en grupos militares.

En la provincia norteña de la isla principal del Japón, el "Shibi-gatchaki" es una enfermedad que afecta a un alto porcentaje de la población y se considera que se debe a la deficiencia de riboflavina. La condición de los enfermos mejora con suplementos de esta vitamina.

Estudios realizados en Jerusalén en 1948 mostraron que muchas mujeres embarazadas de las clases socio-económicas bajas, tenían signos de arriboflavinosis. Como consecuencia en 1948, toda harina procesada en Israel se fortificó (por kilogramo) con 2.5 mg. de riboflavina, 2.5 g. de carbonato de calcio y 30 g. de torta de soya tratada por calor. Encuestas posteriores mostraron una mejoría en la situación de las mujeres embarazadas, la cual se atribuyó al hecho de que 35% de su ingesta de riboflavina provenía de la harina enriquecida (K. Guggenheim, A. Brezezinski, J. Ilan, y B. Kallner, *Am. J. Clin. Nutrition* 7, 526 (1959)).

Las lesiones cutáneas, especialmente en los bordes mucocutáneos, siguen siendo el principal criterio para el diagnóstico clínico de la arriboflavinosis en humanos. Cambios en los niveles sanguíneos de esta vitamina, solamente sugieren las reservas corporales. En pacientes alimentados con una dieta sintética severamente deficiente en riboflavina se observó una anemia normocítica y normocrómica (*Nutrition Reviews* 23, 197 (1965)). Esta anemia y la deficiencia en general, se acentúan en presencia de galactoflavina un antagonista de la riboflavina, y no responde al hierro-dextran o a la piridoxina, pero sí prontamente a la riboflavina.

Con base en el estudio de solamente un paciente en el cual se determinó la eritropoyetina, se sugirió que la riboflavina es un "co-factor en la acción de la eritropoyetina". Esta anemia no se ha descrito con regularidad en la deficiencia natural de riboflavina en el hombre (V.P. Sydenstricker, *Am. J. Pub. Health* 31, 344 (1941)).

El hecho de que la deficiencia de riboflavina produzca anemia en animales se hace cada día más dudoso. Hubo varios informes de anemia en ratas, ratones, perros, zorros y cerdos con deficiencia de riboflavina. Después sin embargo, se ha comprobado que en algunas de estas especies por ejemplo el cerdo, raciones sin riboflavina conteniendo ácido fólico y vitamina B₁₂ produjeron deficiencia de riboflavina sin cambios hematológicos (S.W. Terrill, *J. Animal Sci.* 14, 593 (1955)).

En monos mandriles alimentados con una dieta carente de riboflavina por 2 a 4 meses, los niveles de hemoglobina llegaron a promediar 6.4 g. por 100 ml. En contraste, micos *Cebus* alimentados con una dieta muy baja en riboflavina no desarrollaron anemia sino hasta poco antes de que murieran. Esta anemia probablemente fue consecuencia de la anorexia que se desarrolló. Cuadros de anemia en micos, que anteriormente se había atribuido a deficiencia de riboflavina, pueden haber sido debidos a una deficiencia de ácido fólico (*Nutrition Reviews* 23, 87 (1965)).

El hecho de que el gato severamente deficiente en riboflavina no desarrolla anemia, es evidencia adicional de que la anemia atribuida a la deficiencia de riboflavina es debida a la falta de otros nutrimentos. (S.N. Gershoff, S.B. Andrus y D.M. Hegsted, *J. Nutrition* 68, 75 (1959)). En este estudio, los síntomas predominantes en el gato fueron anorexia, pérdida de peso, cataratas, hipoplasia testicular, hígado graso y cambios cutáneos leves.

En cobayos con una dieta libre de riboflavina hasta por 13 semanas, tampoco se observó anemia ni otras anormalidades de la sangre (H. Hara, *J. Vitaminol.* 6, 24 (1960)). Ninguno de estos animales mostró síntomas pronunciados. El corazón fue el órgano más afectado por una degeneración vacuolar de las células musculares con depósitos anormales de glucógeno. Muchas células musculares estaban atrofiadas y separadas por hemorragia o edema.

La deficiencia de riboflavina en ratas embarazadas, acentuada aún más con inyecciones de galactoflavina, produjo una maloclusión de los dientes incisivos tan severa en las crías, que para permitirles sobrevivir hubo que cortárselos. (F.M. Deuschle, E. Takacs, y J. Warkany, *J. Dent. Res.* 40, 366 (1961)). Tratando de correlacionar estas alteraciones con cambios enzimáticos durante el desarrollo fetal, se llegó a la conclusión de "que un nivel críticamente bajo del dinucleótido de flavina-adenina puede ser la causa de malformaciones embrionales . . ." (*ver Nutrition Reviews* 21, 24 (1963)). Existen todavía algunas dudas sobre si realmente una reducción del dinucleótido de flavina-adenina es la anormalidad bioquímica primaria. Estas se basan en una observación anterior, en ratas jóvenes alimentadas con una dieta deficiente en riboflavina que mostraron una depleción del mononucleótido de flavina y no del dinucleótido de flavina-adenina.

Las crías de ratones que durante el embarazo fueron alimentadas con una dieta deficiente en riboflavina que contenía además galactoflavina, mostraron un gran número de anormalidades del esqueleto, cerebro y esófago. La severidad y la frecuencia de éstas varía con las cepas de ratones (H. Kalter, *Pediatrics* 23, 222 (1959)).

El requerimiento diario de riboflavina ha sido discutido por F. Bro-Rasmussen (*Nutrition Abst. Rev.* 28, 1, 367 (1958)). Este autor asevera que cuando la ingesta de proteína es adecuada, no ocurre deficiencia de riboflavina cuando se ingieren más de 0.5 a 0.8 mg. diarios. El requerimiento de la vitamina está íntimamente relacionado a la ingesta calórica y es, en adultos, de 250 a 270 mcg. por 1000 calorías.

La evidencia presentada parece explicar hallazgos anteriores sobre un aumento del requerimiento de riboflavina con un aumento de la ingesta de grasa. Estos informes están basados solamente en estudios en animales y por consiguiente, sólo se aplican a perros y pollos. En estos, según Bro-Rasmussen, la flora intestinal tiene muy poco efecto sobre los requerimientos de riboflavina. Por el contrario, en otros animales como la rata y el gato, la síntesis intestinal de riboflavina puede ser influenciada por la composición de la dieta, y por consiguiente también los requerimientos de esta vitamina.

Para organismos en crecimiento, el requerimiento de riboflavina (presumiblemente para saturar los tejidos) es de aproximadamente 700 mcg. por 1000 calorías. Este requerimiento es sorprendentemente uniforme para especies que varían desde el ratón hasta ganado vacuno y caballar. Esta constante relación entre la ingesta calórica y el requerimiento de riboflavina hizo que el "Nutrition Board" de la "National Academy of Sciences" (National Academy of Sciences - National Research Council publicación 1146, Washington, D.C., 1964) revisara las bases para sus recomendaciones con respecto a esta vitamina. Anteriormente habían relacionado el requerimiento de riboflavina al nivel proteico de la dieta. En su publicación de 1964 dicen que: "la ingesta recomendada de riboflavina se ha calculado...en 0.6 mg. por 1000 calorías". Sin embargo, este cambio prácticamente no altera las recomendaciones.

Existen muy pocos estudios con respecto a los requerimientos de riboflavina en animales libres de gérmenes. Algunos autores (T.D. Luckey, J.R. Pleasants, y J.A. Reyniers, *J. Nutrition* 55, 105 (1955)) encontraron que los pollos libres de gérmenes alimentados con una dieta libre de riboflavina crecieron tan bien como los pollos convencionales con la misma dieta. La mortalidad principiaba un poco antes y era un poco mayor en los animales libres de gérmenes. Sin embargo no existían diferencias en la concentración de varias vitaminas en el hígado y en el contenido del ciego entre los dos grupos. Estas observaciones concuerdan con la aseveración de Bro-Rasmussen, de que la flora gastrointestinal del pollo es de poca importancia en sus requerimientos nutricionales.

En el hígado del cobayo libre de gérmenes, a pesar de una ingesta muy alta de riboflavina, se encontró una concentración de esta vitamina de solamente la mitad que en animales normales (Hara, *loc. cit.*).

Aunque se ha dicho que para lograr la saturación tisular con riboflavina es necesaria una ingesta dos veces mayor que para crecimiento óptimo (Bro-Rasmussen, *loc. cit.*), este factor pudiera ser hasta de 5 veces. Por análisis se encontró que las concentraciones tisulares de riboflavina en ratas macho aumentan con ingestas crecientes hasta llegar a 100 mcg. Sin embargo aumentos en la ingesta por arriba de 20 mcg. no tuvieron ningún efecto sobre el crecimiento. (O.A. Bessey, O.H. Lowry, E.B. Davis y J.L. Dorn, *J. Nutrition* 64, 185 (1958)).

Además de la riboflavina de la dieta, parece haber factores aún desconocidos que afectan su concentración tisular. Con las mismas ingestas, ratas hembras mostraron menos ganancia de peso, pero mayor concentración tisular. Se obtuvieron mayores concentraciones tisulares con dietas comerciales que con dietas sintéticas purificadas. Aunque las ratas hembras mostraron mayor concentración tisular general a igual nivel de ingesta, las ratas machos mostraron más riboflavina en el hígado.

El frío ambiental parece tener solamente una influencia mínima sobre los requerimientos de riboflavina en animales. Algunos trabajos no concuerdan con esta conclusión. Las diferencias entre las condiciones experimentales en estas investigaciones no permiten comparar los resultados.

Estudios sobre la influencia de factores genéticos sobre los requerimientos de riboflavina, se han realizado en gallinas "White Leghorn", las cuales no pueden transferir una cantidad adecuada de la vitamina a sus huevos. Estos huevos contenían tan poca riboflavina que los embriones morían al décimo cuarto día de incubación. La inyección de riboflavina dentro del huevo permitía la producción de un pollito normal. Se encontró que un gene recesivo prevenía el paso de cantidades adecuadas de riboflavina del alimento al huevo, lo cual estaba asociado al hecho de que el nivel sanguíneo de la vitamina en las gallinas no aumentaban cuando éstas comenzaban a poner huevos. No se pudieron aumentar estos niveles ni con una inyección intracardíaca de la vitamina ni con la inyección subcutánea de estrógenos, (J.W. Cowan, R.V. Boucher, y E.G. Buss, *Poultry Sci.* 40, 1390 (1961); *Nutrition Reviews* 22, 273 (1964)).

La excreción urinaria de riboflavina en humanos normales está directamente relacionada a la ingesta. Cuando estas dos variables se plantean en forma gráfica, ocurre un quiebre marcado en la curva con una ingesta diaria de 1 a 1.5 mg. de riboflavina. En niños este quiebre ocurre con una ingesta de 0.6 a 0.7 mg., en mujeres embarazadas con 1.5 a 2.0 mg. (Bro-Rasmussen, *loc. cit.*). Variaciones en la ingesta por debajo de este punto "crítico" hacen variar muy poco la excreción y la curva es casi paralela al eje de las abscisas y no muy por encima de éste. Con ingestas mayores, la excreción aumenta rápidamente.

No se ha encontrado ninguna evidencia que indique que en sujetos normales con la misma ingesta por períodos largos, la excreción de riboflavina sea una característica individual.

Muchos estudios han mostrado un aumento en la excreción de riboflavina cuando los sujetos se encuentran en balance negativo de nitrógeno, y se ha sugerido que las flavoproteínas forman parte de las proteínas hábiles del cuerpo (J.M. Smith *et. al.*, *J. Nutrition* 69, 85 (1959)). Existen muchas situaciones que se pueden explicar de esta manera.

Existe, sin embargo, evidencia que hace difícil aceptar una relación causal entre la pérdida de nitrógeno y la excreción de riboflavina. Esta se basa en, (1) una reducción de la excreción urinaria de riboflavina durante el tercer día de una dieta solamente de agua *ad libitum*; (2) la gran variabilidad en la relación de la excreción de nitrógeno y riboflavina en individuos que presumiblemente estaban en la misma condición nutricional antes de entrar en balance negativo de nitrógeno (Por ejemplo: reposo en cama), y (3) la baja excreción de riboflavina cuando una deficiencia aguda de tiamina produce pérdidas marcadas de peso y presumiblemente de nitrógeno (R.G. Tucker, O. Mickelsen, y A. Keys, *J. Nutrition* 72, 251 (1960)).

Durante el trabajo físico pesado, la excreción urinaria de riboflavina se redujo en hombres jóvenes, a pesar de una ingesta calórica adecuada y una ingesta constante de la vitamina. Esta reducción fue progresiva y al cuarto día ya sólo representaba un 25% de la excreción original. Más tarde, la excreción de la vitamina aumentó de nuevo, y al décimo día de ejercicio había llegado a ser 2/3 partes de la original. Cuando el período de trabajo pesado se acompañó de inactividad, la excreción de riboflavina aumentó 3 veces, pero cuando los sujetos estaban totalmente inactivos y sin alimentación, la excreción aumentó 7 veces.

Evidencia adicional en contra de una relación fija entre la excreción de nitrógeno y la de riboflavina, proviene de la observación de que durante el primer día de ayuno, el aumento en la excreción de la vitamina ocurre entre 13 y 20 horas después de la última comida (H.G. Windmueller, A.A. Anderson y Mickelsen, *Am. J. Clin. Nutrition* 15, 73 (1964)). Entre las 24 y 37 horas después de la última comida, la excreción de riboflavina había aumentado de 10 a 15 veces sobre la del primer día de ayuno.

La excreción de riboflavina bajo condiciones de semi-inanición (ingesta alimentaria insuficiente para mantener el peso corporal) también muestra algunas peculiaridades que indican falta de correlación con la excreción de nitrógeno. Hombres jóvenes en semi-inanición (con una dieta adecuada bajo todo punto de vista excepto calorías), mostraron una excreción de la vitamina menor que la esperada (A. Keys *et. al.*, *The Biology of human Starvation*, vol. 1, p. 473. University of Minnesota Press, Minneapolis, 1950). Se observó esta excreción menor a pesar de que los tejidos estaban siendo metabolizados como lo indicaba el balance negativo de nitrógeno. Asumiendo que el catabolismo de los tejidos se realiza en forma uniforme durante seis meses de semi-inanición, la riboflavina proveniente de los tejidos catabolizados debería haber sido cuatro veces mayor que la excreción urinaria observada en el estudio de Minnesota. Estos resultados indican que la excreción de riboflavina difiere en inanición aguda y en semi-inanición.

Durante el período de rehabilitación de los sujetos mencionados en el párrafo anterior, éstos excretaron más riboflavina que la esperada en base a su ingesta. Esto ocurrió tanto a las 6 como a las 12 semanas de rehabilitación. Se esperaba lo contrario o sea que la excreción urinaria de la vitamina sería menor debido a la retención en los tejidos que se estaban regenerando.

El tipo de dieta influye en la excreción urinaria de riboflavina. Con una ingesta constante de 630 a 622 mcg. por día, la excreción fue mayor cuando la dieta contenía mucha carne que cuando contenía poca carne (S. Iinuma, *J. Vitaminol.* 1, 90 (1955)). Durante una semana con 14% de las calorías provenientes de carne, la riboflavina urinaria fue bastante constante alrededor de 159 mcg. en 24 horas. La semana siguiente con 58% de las calorías provenientes de carne y huevos, la excreción aumentó de 250 a 500 mcg. La riboflavina fecal fue constante en ambos períodos. Sin embargo, con una dieta vegetal, la riboflavina fecal se quintuplicó. La falta de correlación entre la riboflavina fecal y urinaria sugiere que la riboflavina sintetizada en el intestino no contribuye en nada a la urinaria.

Se ha mostrado también que se excreta más riboflavina en la orina de hombres jóvenes con una dieta sintética que con una dieta mixta regular que provea la misma cantidad de la vitamina. (Tucker, Mickelsen y Keys, *loc. cit.*).

CAPITULO XVI

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE LA VITAMINA B₆

M. A. Williams, Ph.D

La química, los efectos nutricionales y metabólicos, y las funciones enzimáticas de la vitamina B₆, han sido resumidas en forma muy completa (*Vitamins and Hormones* 22, 361 (1964)) en los artículos presentados en el Simposio Internacional sobre Vitamina B₆ en honor del profesor Paul György, quién fué el primero en identificarla como un miembro nuevo del complejo vitamínico B. Un resumen de las más recientes investigaciones sobre los mecanismos de la acción catalítica estimulada por piridoxal se encuentra en *Chemical and Biological Aspects of Pyridoxal Catalysis*, E. E. Snell et. al., Editores. Pergamon Press, New York, 1963, así como en la revisión reciente de P. Fasella (*Ann. Rev. Biochem.* 36, 185 (1967)). Los efectos fisiológicos y bioquímicos de la deficiencia de B₆ en el hombre y los criterios para la evaluación y los efectos fisiológicos-nutricionales de la vitamina B₆ han sido discutidos por H. Linkswiler (*Am. J. Clin. Nutrition* 20, 547 (1967)). P. Holtz y D. Palm también han revisado extensamente los efectos fisiológicos de la vitamina B₆ en relación a sus funciones enzimáticas (*Pharmacol. Rev.* 16, 113 (1964)). Los métodos para la determinación de B₆ y sus formas coenzimáticas han sido revisados por C.A. Storvick, E.M. Benson, M.A. Edwards y M.J. Woodring en *Methods of Biochemical Analysis* 12, 183 (1964).

Con respecto a sus funciones enzimáticas es válido decir que la vitamina, en su forma de fosfato de piridoxal (PLP) o como fosfato de piridoxamina (PMP), participa en la síntesis y/o en el catabolismo de todos los aminoácidos. En animales superiores, esto incluye (1) síntesis de todos los aminoácidos no esenciales y la transaminación de los ceto-análogos de los aminoácidos esenciales; (2) la decarboxilación de muchos aminoácidos; (3) la interconversión de glicina y serina, la cual está relacionada a la producción de unidades de un carbón para la síntesis de grupos metilo; (4) la formación de cisteína a partir de metionina, y su conversión a taurina; (5) la síntesis de dihidroesfingosina, el precursor de esfingosina; y (6) la síntesis del ácido delta aminolevulínico (ALA) del cual se forman compuestos porfirínicos celulares, incluyendo la hemoglobina, mioglobina y los citocromos. Una reacción investigada recientemente, cuyo mecanismo todavía no se ha establecido completamente, es la desaminación oxidativa acoplada a la decarboxilación de la glicina, la cual ocurre tanto en el hígado del pollo como en los microorganismos. En esta reacción, la glicina se convierte en CO₂, amoníaco y ácido hidroximetil-tetrahidrofólico.

Además, el fosfato de piridoxina es parte esencial de la fosforilasa del glucógeno, aunque su función específica todavía no se ha podido clarificar.

Glicina. La importancia de la vitamina B₆ en el metabolismo de la glicina y la serina fue enfatizada por la observación de que la deficiencia de B₆ causa oxaluria en gatos y ratas, con el desarrollo de cálculos renales de oxalato (S.N. Gershoff y F.F. Faragalla, *J. Biol. Chem.* 234, (1959)). La excreción aumentada de oxalato puede reflejar una habilidad disminuida de formar

glicina a partir de glioxalato o de glicolato. Una disminución de la actividad de la transaminasa que cataliza la síntesis de glicina de glioxalato y alanina o glutamato, ha sido descrita en ratas deficientes en B₆ (J.S. Thompson y K.E. Richardson, *Arch. Biochem. Biophys.* 117, 599 (1966)). La suplementación con cantidades adicionales de piridoxina disminuye la excreción de oxalato en sujetos humanos y provoca la tendencia a formación de cálculos renales de oxalato, aunque estos individuos hubieran estado recibiendo B₆ en cantidades adecuadas y excretando solamente cantidades normales de oxalato (Gershoff y E.L. Prien, *Am. J. Clin. Nutrition* 8, 812 (1960)).

Estos resultados sugieren la posibilidad de que ingestas relativamente bajas de B₆ sean un factor en la incidencia mayor de cálculos vesicales de oxalato en niños en aquellas partes del mundo donde la mala nutrición es prevalente. Esta condición no debe de confundirse, sin embargo, con el desorden genético humano llamado hiperoxaluria primaria.

Aminoácidos que contienen azufre. El descubrimiento del papel central de la vitamina B₆ en el metabolismo de los aminoácidos vino a explicar el por qué las dietas altas en proteína, especialmente metionina, aumentan los requerimientos de la vitamina. Sin embargo, el requerimiento aumentado implica que altas ingestas de aminoácidos producen ya sea un aumento en las pérdidas de la vitamina de la célula o un nivel alto de las enzimas que funcionan con PLP y por consiguiente un mayor requerimiento de éste. Existe poca evidencia en favor de la primera posibilidad, la cual podría establecerse definitivamente sólo con estudios con B₆ marcada con isótopos. Ha sido claramente demostrado, sin embargo, que altas ingestas de proteína producen aumentos adaptativos en el nivel de actividad de las enzimas que contienen PLP en el catabolismo de los aminoácidos. (J.E. Wergedal y A.E. Harper, *J. Biol. Chem.* 239, 1956 (1964)).

La actividad de varias de las enzimas que funcionan con PLP en el metabolismo de la metionina y la cisteína es especialmente sensible a los cambios en la ingesta de aminoácidos sulfurados. La cistina en la dieta puede reemplazar una gran porción del requerimiento de metionina de los animales. Hasta hace poco se ha propuesto una base enzimática para explicar esta regulación. La conversión de metionina a cistina requiere la formación de cistationina a partir de homocisteína y serina, una reacción que es catabolizada por la enzima sintetasa de cistationina que funciona con PLP. La cistationina a su vez, se disgrega para dar cisteína, con transferencia del azufre de la homocisteína a la cadena de carbonos de la porción serina de la cistationina. Esta reacción es catabolizada por la enzima cistationasa que también funciona con PLP.

La metionina inyectada o la alimentación por períodos cortos con dietas altas en metionina produjo en ratas, un aumento del 50% en la actividad de la cistationasa hepática. (O. Trautmann y F. Chatagner, *Bull. Soc. Chim. Biol.* 46, 129 (1964)). El aumento resultó, por lo menos en parte, de un aumento en la molécula proteica de la enzima. Recientemente, A. Kato y colaboradores (*J. Biochem.* 59, 34, 40 (1966)) informaron que un metabolito de la cistina enhibía *in vitro* la actividad de la sintetasa de la cistationina.

J. Finkelstein y S.H. Mudd (*J. Biol. Chem.* 242, 873 (1967)), observaron que el contenido de la sintetasa de la cistationina del hígado era reducido por la alimentación con cistina y era aumentado por la alimentación o inyección de metionina. La inyección de varios niveles de metionina resultó en aumentos correspondientes en la actividad de dicha enzima así como de la cistationasa y enzimas activadoras de metionina. Estas últimas catalizan la formación de S-adenosil-metionina a partir de metionina. La alimentación con cistina también disminuye la actividad de la cistationasa y la de las enzimas activadoras de metionina, pero estos descensos son menores que los observados en la actividad de la sintetasa.

Finkelstein y Mudd sugirieron que la regulación metabólica de los aminoácidos sulfurados puede depender de la actividad de sintetasa de la cistationina.

Homocistinuria, defecto genético del humano que resulta en retraso mental, se caracteriza por una excreción urinaria anormal de homocistina. En los casos estudiados hasta ahora, se observó una gran disminución en la actividad de la sintetasa de cistationina del hígado. La concentración de cistationina del cerebro también bajó en estos pacientes, lo cual puede ser un factor en el retraso mental. Se ha sugerido que la cistationina pueda actuar como un agente inhibidor postsináptico. (R. Werman, R.A. Davidoff y M.H. Aprison, *Life Sci.* 5, 1431 (1966)).

La disminución en la actividad de la sintetasa de cistationina producida por la administración de cistina es una complicación potencial en el tratamiento de pacientes con homocistinuria. Podría esperarse que este tratamiento redujera aún más la actividad de la sintetasa, la cual está ya de por sí anormalmente baja. Una disminución adicional podría intensificar cualquier alteración resultante de la deficiencia tisular de cistationina, ya que la cistationina puede tener otras funciones además de ser precursor de la cisteína.

La cistationinuria, otro defecto metabólico humano del metabolismo de aminoácidos sulfurados resulta en un aumento en la cistationina urinaria (G.W. Frimpter, A.J. Greenberg, M. Hilgartner, y F. Fuchs, *Am. J. Dis. Child.* 113, 115 (1967)). Esta condición se caracteriza por un defecto en la enzima cistationasa. En 3 pacientes estudiados, dosis altas de piridoxina (oral o intramuscular) redujeron la concentración de cistationina en la sangre y orina. Comparando la conversión de cistationina a cisteína en homogenizados de hígado de especímenes obtenidos por biopsia, se demostró que había mucho menos en los homogenizados de estos pacientes que en los controles normales.

La adición de un exceso de PLP no aumentó la conversión en el tejido normal, pero si en los homogenizados de estos pacientes, aunque la formación de cisteína era todavía subnormal. Los sujetos no mostraron signos clínicos de deficiencia de B₆, y el metabolismo de la carga de triptofano fue normal. Los resultados fueron interpretados como indicativos de una alteración estructural en la apoenzima que resultó en una ligadura débil con PLP, de tal manera que un aumento en la concentración de PLP aumentaría la cantidad del complejo enzima-coenzima. Cambios en la estructura de otras enzimas que conduzcan a una capacidad disminuida de legar PLP podrían ser responsables de otros "síndromes de dependencia" de B₆ que requieren grandes cantidades de piridoxina para ser corregidos.

Síntesis de anticuerpos y proteínas. La formación de anticuerpos se reduce durante la deficiencia de B₆, y esto puede estar relacionado al hecho de que la deficiencia inhibe la incorporación de aminoácidos en la proteína, tanto *in vivo* como *in vitro*. La incorporación reducida está acompañada por un descenso en polisomas tisulares y una incorporación reducida de ácido orótico en RNA (M. Montjar, A.E. Axelrod, y A.C. Trakatellis, *J. Nutrition* 85, 45 (1965)). Además, la deficiencia de B₆ afecta la incorporación de varios precursores de ácido nucleico al DNA en ratas y por consiguiente resulta en una disminución de la concentración de DNA del bazo.

Consecuentemente, la deficiencia de B₆ parece disminuir la producción de anticuerpos tanto reduciendo la síntesis de los ácidos nucleicos requeridos por las células que forman anticuerpos, como también reduciendo la síntesis de proteínas inmunológicas. La absorción reducida de vitamina B₁₂ en ratas deficientes en B₆, puede también ser un factor que altere la síntesis de ácidos nucleicos (J.M. Hsu y B.F. Chow, *Arch. Biochem. Biophys.* 72, 322 (1957)).

Síntesis del ácido aminolevulínico. La participación de PLP en la síntesis del ácido delta-aminolevulínico (ALA) explica la anemia observada en animales deficientes en piridoxina. ALA es un precursor del heme y otros compuestos de porfirina y se forma de la condensación de succinil-CoA y glicina. La enzima que cataliza esta reacción, la sintetasa del ALA, es una enzima que funciona con PLP. La síntesis de ALA se reduce en glóbulos rojos de patitos deficientes en piridoxina.

La adición de PLP a estas células aumentó la síntesis de heme de glicina y succinato. (D.A. Richert y M.P. Schulman, *Am. J. Clin. Nutrition* 7, 416 (1959)). Todavía se desconoce si la formación limitada de ALA es un factor causal en el tipo de anemia humana que responde a dosis grandes de piridoxina. Un paciente con este tipo de anemia, sin embargo, empleó más ALA que glicina para la síntesis de porfirina (J.W. Harris y D.L. Horrigan, *Vitamins and Hormones* 22, 721 (1964)). Tales anemias pueden deberse a un error metabólico genético que aumenta la necesidad de B₆ en la eritropoyesis, talvez al nivel de la síntesis de ALA.

Esfingosina. Hay evidencia que el PLP estimula la síntesis de dihidroesfingosina en extractos de cerebro de rata (R.O. Brady, J.V. Formica y G.J. Korval, *J. Biol. Chem.* 233, 26, 1072 (1958)). Dihidroesfingosina, precursor de la base fosfolipídica esfingosina, parece formarse de la adición de palmitaldehído al carbono #2 de la serina; el grupo carboxilo de la serina se pierde como CO₂. P.E. Braun y E.E. Snell (*Proc. Nat. Acad. Sci.* 58, 298 (1967)) han investigado detalladamente esta reacción en la levadura *Hansenula cifferri*, y encontraron que la dihidroesfingosina era formada por condensación de palmitil-CoA y serina. El tratamiento del extracto que contiene la enzima en forma activa con cisteína redujo la actividad en un 80%, y la adición de PLP restableció la actividad. La condensación de palmitil-CoA y serina es análoga a la formación del ácido delta aminolevulínico a partir de succinil-CoA y glicina.

Fosforilasa. El hallazgo de que el PLP era una parte esencial de la fosforilasa del glucógeno sugiere nuevas funciones para esta coenzima, las cuales hasta ahora estaban asociadas principalmente con las enzimas del metabolismo de los aminoácidos. T. Baranowski, B. Illingworth, D.H. Brown y C.F. Cori (*Biochem. Biophys. Acta* 25, 16 (1957)) encontraron que el PLP estaba presente en la fosforilasa del músculo del conejo. Cori e Illingworth (*Proc. Nat. Acad. Sci.* 43, 547 (1957)), demostraron que el PLP era necesario para la actividad catalítica de la enzima.

La deficiencia de B₆ disminuyó los niveles de la fosforilasa del músculo de rata y ratón, pero la adición de PLP a preparaciones de músculo no aumentó la actividad de la enzima. Esto sugiere que la síntesis de la apoenzima está reducida en animales deficientes.

La fosforilasa de la glándula adrenal y del hígado también está disminuida. Los niveles de glucógeno del músculo estaban normales o ligeramente reducidos en ratas deficientes. Esto contrasta con el nivel alto de glucógeno en el músculo de pacientes con enfermedad de almacenamiento de glucógeno tipo V, en quienes la fosforilasa muscular está ausente.

La mayor parte de la vitamina B₆ en el músculo existe probablemente como PLP ligado a la fosforilasa, ya que la deficiencia de B₆ causa aproximadamente una disminución del 35% tanto en la actividad de la fosforilasa muscular como en el contenido de B₆. En otros tejidos, la actividad de la fosforilasa es más baja, pero el contenido de B₆ es más alto. Consecuentemente, la proporción de B₆ ligada a la fosforilasa debe ser menor en estos tejidos, mientras que la mayor parte de la vitamina B₆ del músculo debe estar presente en la fosforilasa.

La fosforilasa no muestra ninguna de las funciones enzimáticas características de enzimas dependientes de B₆. E.H. Fisher y E.G. Krebs (*Fed. Proc.* 25, 1511 (1966)) han propuesto las siguientes alternativas para explicar la acción del PLP en la fosforilasa: (a) el PLP actúa en el control de la actividad de la enzima, aunque no directamente relacionado en el proceso catalítico; (b) el PLP es una parte estructural de la proteína y puede contribuir a su estabilidad o servir como forma de almacenaje de B₆; (c) el PLP está relacionado directamente en el proceso catalítico, no a través de los grupos aldehídico o fenólico, sino posiblemente a través del nitrógeno del anillo.

Metabolismo de la vitamina B₆. La disponibilidad de formas de la vitamina B₆ marcadas con isótopos radioactivos hará posible realizar estudios más detallados y cuantitativos de su metabolismo. Experimentos con piridoxina marcada con tritio han sido publicados recientemente. A.M. Huber y Gershoff (*J. Nutrition* 87, 407 (1966)) encontraron que la hipófisis mostraba la mayor presa de piridoxina por gramo de tejido, así como la pérdida más rápida cuando las ratas eran transferidas a una dieta deficiente en piridoxina. Esto sugiere que el metabolismo de la hipófisis pueda cambiar significativamente durante la deficiencia de piridoxina.

D.A. Vaughan y R.L. Winders (*Metabolism* 15, 676 (1966)) informaron que la desocipiridoxina parece bloquear, *in vivo*, algunos de los sitios disponibles para la ligación de ³H-piridoxina, ya que la excreción de tritio era mayor en ratas alimentadas con una dieta deficiente más desoxipiridoxina, que en ratas alimentadas con la dieta deficiente pero sin el compuesto antagonista. S. Johansson, S. Lindstedt y U. Register (*Am. J. Physiol.* 210, 1086 (1966)) encontraron que la excreción urinaria de tritio el primer día después de la inyección con ³H-piridoxina aumentó conforme la ingesta de piridoxina era mayor, pero la tasa de eliminación después del primer día no era alterada significativamente por el nivel de ingesta de piridoxina.

Metabolismo de lípidos. Un posible papel de la piridoxina en el metabolismo de los ácidos grasos o de los ácidos grasos esenciales no está todavía claro, aunque el PLP está indirectamente relacionado con el metabolismo de los ácidos grasos vía la síntesis de esfingosina, serina, etanolamina y colina. La sugerencia original de que el metabolismo de los ácidos grasos esenciales podía estar alterado en la deficiencia de B₆ estaba basada en la similitud superficial entre las lesiones de la piel causadas por deficiencia de ácidos grasos esenciales y por deficiencia de piridoxina. Sin embargo, histológicamente las dos condiciones son muy diferentes, y la administración de ácido araquidónico no cura las lesiones causadas por deficiencia de B₆ (V. Ramalingaswami y H.M. Sinclair, *J. Invest. Dermat.* 20, 81 (1953)).

Alguna evidencia en favor de un efecto directo de la vitamina B₆ en el metabolismo de lípidos fue proporcionada por la observación de que el PLP estimulaba la incorporación de acetato ¹⁴C en ácidos grasos, por extractos mitocondriales de hígado de res. La respuesta de estos extractos al PLP fueron variables, sin embargo. En contraste, la adición de PLP disminuyó la incorporación de acetato a ácidos grasos por mitocondrias intactas (W. Stoffel, *Hoppe Seyler's Z. f. Physiol. Chem.* 333, 71 (1963)).

Recientemente, A. Goswami y J.C. Coniglio (*Proceedings of the Seventh International Congress of Nutrition, Hamburg*, p. 253, 1966) encontraron que el PLP estimulaba la incorporación de ¹⁴C-acetil-CoA en araquidonato y docosahexanoato por microsomas del hígado, así como también en los ácidos grasos de cadenas largas tanto en microsomas como en mitocondria. Esta es la evidencia más directa en favor de una función del PLP en la síntesis de ácidos grasos.

Caries dental. Monos y hámsters alimentados con dietas deficientes en B₆ muestran un aumento en caries dentales. La evidencia de un efecto de B₆ en la caries dental en el hombre

todavía no es conclusiva a pesar de que estudios clínicos limitados indican que la suplementación con piridoxina puede tener un efecto protector (R.W. Hillman, *Vitamins and Hormones* 22, 695 (1964)).

Vitamina B₆ en nutrición humana. El requerimiento mínimo para hombres jóvenes ha sido establecido al nivel de 1.25 mg/día (30 g. de proteína/día) ó 1.50 mg/día (100 g. de proteína/día) ya sea con una dieta formulada que proporciona 0.06 mg. de B₆ a menos que fuera suplementada, o con una dieta a base de alimentos naturales. (H.E. Sauberlich, *Vitamins and Hormones* 22, 807 (1964)). Con estos niveles de piridoxina, cantidades normales de ácido xanturénico son excretadas después de una prueba de sobrecarga con triptofano.

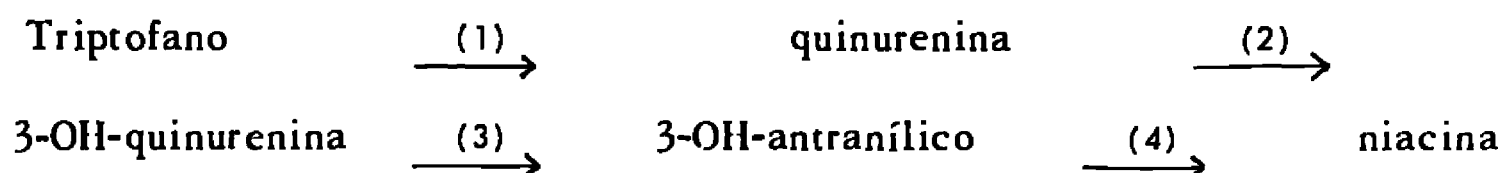
Las ingestas recomendadas han sido alrededor de 1.5 mg/día para dietas bajas en proteína y de 1.75 a 2.0 mg/día para dietas altas en proteína. Con la dieta formulada sin suplementación descrita anteriormente, se observó una excreción anormal de ácido xanturénico dentro de una semana con la dieta que proporcionaba 100 g. proteína/día, y después de 6 semanas con la dieta de 30 g. de proteína. Anormalidades encefalográficas aparecieron después de 21 días con cualquiera de las dos dietas, la de alto o bajo contenido de proteína. Estas alteraciones desaparecieron al tratar con piridoxina, pero la velocidad de recuperación no mostró relación directa con la dosis, o duración del tratamiento.

N. Yess y colaboradores (*J. Nutrition* 84, 229 (1964)) encontraron una excreción anormal de ácido xanturénico en muchachos jóvenes, después de 2 a 15 días de recibir una dieta que les proporcionaba 100 g. de proteína y 0.16 mg. de B₆ por día. La excreción de quinurenina y de OH-quinurenina también estaba elevada, con aumentos proporcionalmente mayores de OH-quinurenina conforme la deficiencia progresaba.

Varias pruebas para evaluar bioquímicamente el estado nutricional con respecto a la vitamina B₆ continúan recibiendo muy necesaria atención. La excreción de ácido xanturénico después de una sobrecarga de triptofano es todavía una de las pruebas más generalmente usadas, aunque, la comparación de resultados de diversos experimentos es a menudo difícil, debido a diferencias en las técnicas analíticas usadas y en la cantidad y forma (DL o L) del triptofano administrado. Una dosis estándar de 2 g. de triptofano ha sido propuesta para estudios en adultos; para lactantes se recomienda una cantidad de 50 mg. por kg. de peso.

Una objeción importante a la prueba de sobrecarga con triptofano, especialmente con cantidades grandes, es la posibilidad de, a) que el triptofano pueda ligar al PLP de los tejidos, o sea que la prueba misma pueda producir una deficiencia transitoria de PLP para sus funciones enzimáticas (P.A.M. Hughes y D.N. Ranie, *Clin. Chim. Acta.* 14, 399 (1966)) o b) que dosis altas de triptofano puedan resultar en un aumento desproporcionado de los niveles de pirrolasa del triptofano en relación a los niveles de otras enzimas del metabolismo de la quinurenina. Esto consecuentemente produciría un aumento en la excreción de quinurenina y de otros metabolitos, aún en sujetos con ingesta adecuada de B₆. Una dosis de 2 g. de L-triptofano no afecta el nivel de pirrolasa del triptofano (K. Altman y O. Greengard, *J. Clin. Invest.* 45, 1527 (1966)). La pirrolasa del triptofano del hígado puede estar elevada, sin embargo, en condiciones en que hay un aumento en la secreción de glucocorticoides suprarrenales.

La base de la excreción de ácido xanturénico como un índice de deficiencia de vitamina B₆ depende de las reacciones relacionadas con la conversión de triptofano a niacina, las cuales ocurren como se indica a continuación:



La quinureninasa, enzima que cataliza la reacción #3, es una enzima que funciona con fosfato de piridoxal (PLP) como coenzima. La deficiencia de vitamina B₆ reduce el nivel de actividad de la quinureninasa de tal manera que mayores cantidades de quinurenina y OH-quinurenina se acumularían para ser metabolizados por otras vías, tales como su conversión a ácido xanturénico. La formación de ácido xanturénico, sin embargo, también requiere una enzima dependiente de PLP, la transaminasa de quinurenina. Sería de esperar por consiguiente, que la excreción de ácido xanturénico estuviera también reducida en la deficiencia de B₆.

Una posible explicación de la mayor excreción de ácido xanturénico fue proporcionada por N. Ogasawara, Y. Hagino y Y. Kotate (*J. Biochem.* 52, 162 (1962)). Estos investigadores encontraron que la actividad quinureninasa, presente principalmente en la fracción "soluble" de la célula, disminuyó en un 75% en ratas deficientes en piridoxina, pero la actividad de la transaminasa de la quinurenina, la cual era principalmente mitocondrial, disminuyó solamente en un 50%. La depresión en la actividad de transaminasa reflejó principalmente una disminución en PLP, no en la apoenzima.

Otra prueba del estado nutricional en relación a la vitamina B₆ se basa en el efecto de la depleción y de la repleción sobre la actividad de las transaminasas glutámico-oxalacético (GOT) y glutámico-pirúvico (GPT) en diferentes componentes de la sangre. En la mayor parte de los casos, la actividad de la transaminasa disminuye durante la deficiencia, pero la velocidad de aumento durante la repleción varía con el grado de deficiencia, el nivel de suplementación y la composición de la dieta basal. La actividad de la GOT en los eritrocitos parece ser la más sensible a la depleción o repleción.

Una disminución significativa ocurrió en hombres jóvenes después de solamente cuatro días de deficiencia con una dieta que proporcionaba 150 g. de proteína por día. Este cambio coincidió solamente con cambios pequeños en el metabolismo del triptofano (H. Linkswiler, *Am. J. Clin. Nutrition* 20, 547 (1967)). En ratas, la actividad de GOT en hemolizados de sangre parece ser una mejor medida de la ingesta de B₆ que la transaminasa del hígado, respondiendo en forma linear (escala log.) a diferentes niveles de ingesta de piridoxina (M.C. Cheney y G.H. Beaton, *Canad. J. Physiol. Pharmacol.* 43, 591 (1965)). Sin embargo, la actividad de GPT de la sangre parece ser más sensible a la deprivación de B₆.

La excreción de ácido 4-piridóxico; un metabolito importante de la vitamina B₆, también se usa como índice de la ingesta de B₆, ya que disminuye rápidamente durante la depleción y aumenta en repleción. Los niveles sanguíneos de vitamina B₆ y de sus formas coenzimáticas reflejan la ingesta de B₆, pero las dificultades metodológicas para su extracción de la sangre han limitado el uso en esta prueba.

Determinación de vitamina B₆ en alimentos. En la determinación de B₆ en alimentos, el mayor avance ha consistido en el desarrollo de procedimiento para la reparación de sus diferentes componentes por columna cromatográfica usando resina de intercambio iónico tipo Dowex. Los eluidos de la columna son luego analizados por medio de métodos apropiados a la forma de la vitamina presente en el eluido. Los ensayos microbiológicos son todavía los principales, a pesar de que los métodos basados en la fluorescencia de la cianohidrina de piridoxal tienen también mucha sensibilidad. Una dificultad potencial del método fluorescente, sin embargo, es la inter-

ferencia de otros materiales fluorescentes en los eluidos. Además, como en todos los análisis, la extracción completa de la sustancia constituye un problema mayor. En la determinación de los componentes de B₆, el problema es aún mayor, debido a la variedad de formas en las cuales la vitamina existe en la naturaleza.

La determinación del contenido total de B₆ sumando los componentes determinados separadamente, parece dar resultados más aceptables que la determinación en el extracto total no procesado por cromatografía. Esto es especialmente cierto en productos ricos en almidón, ya que la cromatografía elimina productos resultantes de la hidrólisis del almidón que estimulan el crecimiento de las levaduras. El método cromatográfico de E.W. Toepfer y colaboradores, fue desarrollado originalmente para productos alimenticios, especialmente vegetales. V.F. Thiele y M. Brin (*J. Nutrition* 90, 347 (1966)) han modificado el método para análisis de tejidos animales.

CAPITULO XVII

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE LOS REQUERIMIENTOS DE VITAMINA B₁₂ DEL HOMBRE

William J. Darby, M. D., Ph.D.

Antes de que se lograra la identificación de la vitamina B₁₂ como el factor extrínseco se definía la "unidad" como la cantidad mínima diaria de preparaciones administradas por la vía parenteral que producían una respuesta terapéutica máxima en pacientes con anemia perniciosa. El único ensayo de confianza hacía uso de sujetos humanos con anemia perniciosa. Sin embargo, cuando la vitamina B₁₂ se obtuvo en forma cristalina pareció lógico al ya fallecido Randolph West y sus colaboradores estimar la cantidad de este material cristalino que era equivalente a esta "unidad".

En sus experiencias iniciales estos investigadores (West y E.H. Reisner, Jr., *Am. L. Med.* 6, 643 (1949)) estimaron que un microgramo diario de vitamina B₁₂ intramuscular era una dosis mínima efectiva. Investigaciones posteriores han revelado que esta aproximación era de la magnitud apropiada, y que debe dársele el reconocimiento apropiado a la vasta experiencia clínica basada en el empleo de dosis parenterales de aproximadamente estos mismos niveles en el establecimiento de los requerimientos de esta vitamina.

Un concepto nutricional simple de la anemia perniciosa, que parece ser válido, es el que ésta consiste esencialmente de una deficiencia no complicada de vitamina B₁₂ condicionada por la falta de factor intrínseco que resulta en la inhabilidad de absorber esta vitamina de los alimentos. La validez de este concepto descansa sobre ciertos tipos de evidencia, de los cuales son particularmente convincentes la comparación con el desarrollo clínico de una deficiencia de vitamina B₁₂ en vegetarianos, en pacientes después de una gastrectomía total que resulta en la pérdida del factor intrínseco y la interferencia con la absorción de esta vitamina, y la recurrencia observada después de omitir la terapia en pacientes con anemia perniciosa previamente bien controlados con una terapia adecuada. La deficiencia experimental simple de la vitamina B₁₂ todavía no se ha podido producir en el adulto humano bajo condiciones de observación continua y cuidadosa. La factibilidad de producir deficiencia experimental sin mayor riesgo, es sugerida por la comparación de observaciones en vegetarianos, en sujetos post-gastrectomizados y en pacientes con anemia perniciosa que hayan tenido recurrencia de la enfermedad (W.J. Darby et al., *Am. J. Clin. Nutr.* 6, 513 (1958)).

Una dieta prolongada estrictamente a base de vegetales puede dar como resultado un síndrome consistente en glositis, anemia, cambios neurológicos y niveles bajos de vitamina B₁₂ que responden a la administración de este nutrimento (F. Wokes, J. Bandenoch y H.M. Sinclair, *Am. J. Clin. Nutr.* 3, 375 (1955)); Wokes, *Proc. Nutrition Soc.* 15, 134 (1956)). El tiempo de aparición de un síndrome similar de anemia macrocítica después de gastrectomía total puede ser predicho con bastante exactitud. M. Paulson y J.C. Harvey (*J. Am. Med. Assn.* 156, 1556 (1954)), por ejemplo, estudiaron a 27 pacientes que lentamente desarrollaron macrocitosis (de 6 meses a 7 años), ane-

mia (de 1 a 7 años) y médula ósea megaloblástica (de 2 a 7 años) sucesivamente. Pacientes con anemia perniciosa previamente bien tratados y que fueron regularmente observados después de la omisión de la terapia, requirieron de 4 a 75 meses para mostrar recurrencia hematológica. Esto es un lapso de tiempo muy similar al requerido en pacientes gastrectomizados o vegetarianos para desarrollar signos de deficiencia de vitamina B₁₂.

Es interesante que la primera manifestación de recurrencia hematológica fue la macrocitosis, la cual se presentó mucho antes de la aparición de un cuadro claro de anemia. La hematopoyesis sufrió alteraciones mucho antes de la aparición de la más leve evidencia de glositis o trastornos neurológicos. Por éstos y otros datos parecen ser válidas las deducciones de que los requerimientos de vitamina B₁₂ administrada parenteralmente (o absorbida) por el paciente con anemia perniciosa o gastrectomizado deberán ser similares a los requerimientos de un sujeto normal.

Era de interés por consiguiente, validar más la estimación cuantitativa inicial hecha por West. Utilizando los estándares adoptados ya por largo tiempo, basados en las respuestas iniciales para sujetos adecuadamente tratados, se encontró que las dosis menores de 0.5 microgramos de esta vitamina administradas por vía parenteral y por día, nunca producían un ritmo eritropoyético óptimo; una dosis de 0.5 microgramos por día resulta en actividad eritropoyética esperada en dos de cinco pacientes, dosis mayores, hasta de 1.0 microgramo, produjeron respuestas máximas en 4 de 6 pacientes. (Darby *et al.*, *Am. J. Med.* 25, 726 (1958)).

Estudios de dosis de mantenimiento en las cuales pacientes que habían sufrido recurrencia fueron tratados con 0.2 a 4.0 microgramos de vitamina B₁₂ por día por la vía parenteral durante períodos de 3 a 96 meses y en los cuales se estimaron parámetros hematológicos (volumen de células empacadas, hemoglobina, recuento de glóbulos rojos y VCM, llevaron a la conclusión de que 0.5 a 2.0 microgramos de vitamina B₁₂ constituían la cantidad diaria de vitamina utilizada para el mantenimiento de una eritropoyesis máxima (incluyendo la desaparición de macrocitosis). Un margen mucho más pequeño de 0.5 a 1.0 microgramos fue suficiente para la mayoría de los sujetos. Asumiendo que esas pequeñas dosis de vitamina administradas por la vía parenteral son utilizadas al máximo y aceptando la evidencia existente sobre la eficiencia de absorción de la vitamina B₁₂ por individuos normales y sanos (G.B.J. Glass, *Rev. Hematol.* 10, 137 (1955)) se calculó que las necesidades dietéticas mínimas diarias eran de 0.6 a 2.8 microgramos; con ingestas de 0.6 a 1.2 microgramos suficientes para la mayoría.

Lo razonable de estas estimaciones es confirmado por información obtenida con respecto al contenido de vitamina B₁₂ de los alimentos comúnmente usados y en dietas que satisfacen recomendaciones dietéticas diarias. Se prepararon y analizaron dietas adecuadas de alto costo, adecuadas de bajo costo, y dietas pobres típicas de las dietas limitantes y consumidas por un grupo de pacientes de la clínica. Estas contenían un promedio de 31.6, 16 y 2.7 microgramos de vitamina B₁₂ respectivamente (A.S. Mangay Chung, *et al.*, *Am. J. Clin. Nutrition* 9, 573 (1961)).

Numerosas mediciones de la vida media biológica de la vitamina B₁₂ han sido publicadas. A pesar de ciertas diferencias en interpretación, todas indican una vida media relativamente larga para esta vitamina. Los datos de R.C. Bozian y colaboradores (Bozian *et al.*, *Am. J. Clin. Nutrition* 12, 117 (1963)) indican que no hay diferencia significativa en la vida media de la vitamina B₁₂ entre sujetos normales y pacientes con anemia perniciosa. Después de aproximadamente dos meses la tasa de decadencia de la radioactividad en el organismo era relativamente constante. La vida media biológica cae entre 462 a 770 días con una constante de decadencia de 0.09 a 0.15% de los conteos residuales diarios para sujetos sanos y de 0.11 a 0.17% para pacientes con anemia

perniciosa. A pesar de las diferencias en la magnitud exacta de esta constante, su existencia indica que el tamaño de las reservas residuales de B₁₂ en el organismo es el factor determinante principal de la cantidad que se pierde diariamente. Un bajo nivel de ingesta y un pozo fisiológico reducido se asocian a una excreción de pequeñas cantidades de este factor. Niveles altos en las reservas del organismo resultan en excreción de cantidades grandes. Puede calcularse que si las reservas del organismo iniciales alcanzan cerca de 4000 microgramos se reducirían a un nivel de aproximadamente 500 microgramos (reserva compatible con el desarrollo de anemia) en aproximadamente 5 años, asumiendo que el ritmo de decadencia diaria sea de 0.1%. Este hecho es consistente con las observaciones clínicas durante recurrencia. Expresado de otra manera, para mantener un contenido total de 5000 microgramos en el organismo, se requeriría la restitución de la pérdida de 5 microgramos diarios.

Para cerciorarse de que la cantidad de vitamina B₁₂ podría ser razonablemente obtenida de los alimentos, R.M. Heyssel, Bozian, Darby y M.C. Bell (*Am. J. Clin. Nutrition* 18, 176 (1966)) prepararon carne con vitamina B₁₂ marcada con cobalto radioactivo a ovejas con cloruro de cobalto radioactivo y subsecuentemente sacrificando a los animales. Se demostró que aproximadamente el 95% de la radioactividad de los tejidos preparados estaba en la cianocobalamina. Cuando esta carne se administró a los sujetos normales en cantidades que proporcionaban aproximadamente 1 a 5 microgramos de vitamina B₁₂ la absorción fue similar a la observada cuando se administraba vitamina B₁₂ cristalina en iguales cantidades. Los datos revelaron que cuando la ingestión alcanzaba de 2.5 a 3 microgramos por comida ocurría un bloqueo en la absorción. Observaciones sobre los efectos de comidas sucesivas sobre la absorción indicaron que no había un efecto prolongado de saturación de los sitios de unión de la vitamina B₁₂ a nivel del intestino, ni una interferencia con el transporte como resultado de una comida previa. Por lo tanto, sujetos normales podrían absorber diariamente una cantidad mayor de 6 microgramos si las tres comidas del día contuvieran de 3 a 5 microgramos cada una.

Las consideraciones mencionadas hacen posible definir dos niveles dietéticos estándar: 1) los requerimientos dietéticos mínimos de vitamina B₁₂ suficientes solamente para mantener la salud y una hematopoyesis normal en la mayoría de los sujetos permitiendo un pequeño pozo fisiológico de esta vitamina. Utilizando los datos de absorción obtenidos de sus observaciones usando carne, Heyssel *et al.* (*loc. cit.*) opinan que de 0.9 a 1.8 microgramos en la dieta deberán proveer una suficiente cantidad de esta vitamina para la mayoría de los individuos, 2) una ingesta dietética diaria aproximada de 3 a 6 microgramos o más es necesaria para mantener las reservas del organismo a un alto nivel de 2 a 5 miligramos.

Los datos obtenidos de mediciones con contadores de cuerpo total así como su interpretación difieren según los diferentes laboratorios de donde provienen. Sin embargo, los investigadores difieren aún más en sus estimaciones de los niveles fisiológicos para una nutrición adecuada que en lo referente a las pérdidas diarias del organismo. Por ejemplo, H.C. Heinrich (*Seminars in Hematology* 1, 199 (1964)) opina que el ser humano debe absorber por lo menos 2.55 microgramos de vitamina B₁₂ de una ingesta de 4 a 5 microgramos para prevenir que los síntomas clínicos de la deficiencia de vitamina B₁₂ aparezcan. En el otro extremo, L.W. Sullivan y V. Herbert (*New Engl. J. Med.* 272, 340 (1965)) sugieren que 0.1 microgramos son los requerimientos mínimos diarios de vitamina B₁₂. Las primeras estimaciones son demasiado altas porque fallaron en reconocer que las pérdidas obligatorias dependen del tamaño total de las reservas de B₁₂ del organismo. Las últimas subestiman en mucho los requerimientos mínimos, basándose en observaciones en las cuales los pacientes tratados con 0.1 microgramos de esta vitamina no exhibieron ni una reticulocitosis máxima, ni la desaparición de la evidencia morfológica de deficiencia de vitamina B₁₂.

Desafortunadamente, la evolución gradual de los conocimientos bioquímicos ha sido tal, que estos estudios largos y tediosos fueron iniciados antes de que fuera posible determinar adecuadamente la vitamina B₁₂ en sangre y en orina o el metilmalonato y otros índices útiles actualmente reconocidos que reflejan los niveles del nutrimento o su función metabólica. Para extender y refinar los estudios sobre los requerimientos, es esencial relacionar en forma apropiada los hallazgos bioquímicos y morfológicos con observaciones clínicas de larga duración.

Todos los datos anteriormente mencionados están limitados a personas adultas. No se conoce bien como las estimaciones de los requerimientos puedan variar durante el embarazo. En vista de la frecuencia con que se observan las anemias que corresponden al ácido fólico durante el embarazo en contraste con anemias que responden a B₁₂ es de suponer que el embarazo no aumenta grandemente las necesidades de vitamina B₁₂. De manera similar hay poca evidencia en relación a las necesidades de vitamina B₁₂ para el crecimiento. Informes previos indicando un aumento en el crecimiento de niños con la administración de vitamina B₁₂ no han sido corroborados por investigaciones más recientes. Finalmente, el significado fisiológico de variaciones metabólicas detectables bioquímicamente (tales como la excreción de metilmalonato) en individuos aparentemente sanos y no anémicos permanece aún sin definir.

CAPITULO XVIII

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE ACIDO ASCORBICO (VITAMINA C)

C. G. King, Ph.D.

La vitamina C, fue aparentemente, el primer nutrimento individual que se asoció con la presencia de enfermedad. Grupos primitivos de población en muchas partes del mundo reconocían la necesidad de alimentos frescos, particularmente de origen vegetal, para prevenir y curar la enfermedad que ahora es reconocida como escorbuto. Los indios de América del Norte, por ejemplo, apreciaban las raíces frescas y extractos de hojas que se mantenían verdes durante el invierno, así como los bulbos y hojas durante la primavera, para prevenir los síntomas característicos de esta deficiencia vitamínica. Ha sido, sin embargo, la investigación durante los últimos 35 años la que ha proporcionado la mayor parte de los conocimientos sobre la vitamina como nutrimento específico. La identificación de la sustancia cristalina pura, los métodos de análisis químico, y su síntesis comercial a partir de D-glucosa ocurrieron en la primera parte de la década de 1930 (C.G. King, *Physiol. Rev.*, 16, 238 (1936); *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 92, Art. 1: *Vitamin C* (1961)).

La vitamina parece estar presente y ser esencial para el normal funcionamiento de todas las unidades celulares en las plantas y animales superiores estudiados hasta la fecha, incluyendo estructuras subcelulares como los ribosomas y las mitocondrias. El grado al cual diferentes tejidos sintetizan y distribuyen esta sustancia a los otros tejidos del mismo organismo ha recibido muy poca atención ya sea en plantas o en animales. En las plantas, sin embargo, parece que la vitamina C juega un papel esencial en fotosíntesis y es rápidamente sintetizada en todas las células más activas durante los estados iniciales de la germinación de las semillas. Varias de las azúcares simples pueden ser convertidas en ácido ascórbico en las plantas, pero en los animales, los precursores reconocidos son la D-glucosa (principalmente) y la D-galactosa.

Entre todos los animales estudiados hasta la fecha, solamente el hombre y otros primates, el cobayo y dos especies animales encontradas en la India, un pájaro (bulbul) y un murciélago que se alimenta de frutas, necesitan ingerir vitamina C en los alimentos (R.N. Roy and B.C. Guha, *Nature* 182, 319, 1689 (1958)). Estos animales son genéticamente deficientes en la enzima oxidasa de la L-gulonolactona. Los otros animales sintetizan ácido ascórbico a partir de glucosa, vía ácido glucurónico y lactona gulónica (*Nutrition Reviews* 15, 160 (1957)) y mantiene esta síntesis bajo control fisiológico siempre que todos los otros nutrientes esenciales sean proveídos.

La concentración normal de ácido ascórbico en varios tejidos y fluidos del organismo de todos los animales superiores tiende a seguir un patrón similar, pero hay sin embargo, muchas diferencias moderadas. La leche humana, por ejemplo, generalmente contiene 3 a 4 veces más vitamina C que la leche de vaca, a no ser que la dieta de la madre haya sido marcadamente deficiente por un período largo.

La distribución tisular de ácido ascórbico y los cambios que ocurren en ésta durante la deficiencia, son similares en el hombre y en todos los animales que dependen de fuentes dietéticas

de esta vitamina. El tejido muscular es relativamente bajo en contenido de ácido ascórbico comparado con los tejidos glandulares. Bajo condiciones de deficiencia las concentraciones en sangre y en orina bajan más rápidamente y en mayor grado que en las células de la sangre y tejidos fijos. La hipófisis, la corteza suprarrenal, el cuerpo amarillo, el tejido embrionario, los leucocitos y las células glandulares del tracto intestinal, son particularmente ricas en ácido ascórbico y su contenido varía con el grado de actividad. El páncreas, el riñón, el hígado, el timo, las glándulas salivares, el bazo y el cerebro, muestran un contenido intermedio.

La velocidad de síntesis y excreción en la rata puede ser notablemente retardada o acelerada, por la ingesta de otros nutrientes y compuestos químicos especiales. Inanición, o ingesta deficiente de tiamina o vitamina A causan una marcada disminución en la excreción urinaria; la leche induce también un bajo nivel de excreción comparado con una dieta mixta que contenga aceites esenciales como carvona. Prácticamente todos los depresores nerviosos tales como la cloretona y los barbituratos causan muy grandes incrementos en la síntesis y excreción de la vitamina. Algunos hidrocarburos como la 3, 4-benzpirina son más activos. El uso de estas técnicas ha facilitado mucho la investigación sobre la síntesis y metabolismo de la vitamina C (C.G. King, R.R. Becker, H.H. Burns *et al.*, (*ver Nutrition Reviews* 12, 155 (1954); 19, 48 (1961)).

Los cambios característicos observados en deficiencia de vitamina C, aproximadamente en el orden en que se hacen evidentes son: excreción urinaria disminuida, descenso en la concentración plasmática, descenso en la concentración en los leucocitos y los tejidos, debilidad, lasitud, anorexia y crecimiento retardado, anemia, propensión a infecciones, hipersensibilidad al tacto, encías hinchadas e inflamadas, dientes flojos, articulaciones de la muñeca y el tobillo hinchadas, dificultad para respirar, fiebre, petequias hemorrágicas por ruptura de capilares, alteraciones de las costillas en la unión condrocostal, "líneas escorbúticas" reveladas por rayos X en la tibia y el fémur, fracturas de la epífisis y hemorragias masivas del tejido subcutáneo, articulaciones, músculo e intestino. La velocidad respiratoria total está aumentada, a pesar de la lasitud y debilidad; la aparición de cambios tisulares coincide con la pérdida de la integridad del tejido colágeno. La mayoría de las alteraciones clínicas obvias son, en realidad, causadas por la falla en el mantenimiento de la integridad normal del colágeno.

Investigaciones bioquímicas recientes han elucidado al fin la relación entre la vitamina C y el colágeno. El colágeno es una proteína peculiar por su alto contenido de hidroxiprolina, a pesar de que la prolina, sin el grupo hidróxilo, es un constituyente proteico común. La ingestión de hidroxiprolina no resulta en su incorporación en el colágeno, pero después de que la prolina se ha incorporado a la proteína al nivel de los ribosomas, el ácido ascórbico y el oxígeno son esenciales para la adición del grupo hidróxilo al carbono 4 de la prolina para formar colágeno normal. Esta reacción la cataliza una enzima llamada "hidroxilasa de la prolina del colágeno" (S. Udenfriend, *Science* 152, 1335 (1966); N. Stone y A. Meister, *Nature* 194, 555 (1962)). Este sistema ha sido demostrado en ratas, cobayos y pollos. Por analogía se cree que un mecanismo similar explica la formación de hidroxilisina y de otros compuestos similares tales como el hidroxitriptofano.

Al manifestarse el escorbuto no parece haber un cambio en la actividad fibrinolítica de la sangre. Se ha informado, sin embargo, sobre una alteración en el mecanismo de coagulación con prolongación del tiempo de protombina hasta 20-40 segundos; después de la administración de anticoagulantes del tipo dicumarol, el contraste es mucho más grande.

A pesar de que la deficiencia de ácido ascórbico altera a menudo el metabolismo del colesterol, la evidencia no indica ventaja clínica de la administración de ácido ascórbico (V.F. Zaitsev, A. Myasnikov, y M.B. Sheikman, *Fed. Proc.*, 24, T 971 (1965)).

Los informes sobre el control de la síntesis de esteroides son también discordantes. Inyecciones de ACTH, sin embargo, causan una pérdida cuantitativa en ácido ascórbico de la corteza suprarrenal hacia el torrente circulatorio, pérdida que se recupera rápidamente. La adenosinatri-fosfato (ATP) puede inducir una pérdida similar. La hipertrofia de las glándulas adrenales hasta un 270% durante el escorbuto señala una relación funcional que aún no ha sido identificada.

En relación a otros nutrientes, se ha demostrado que el ácido ascórbico ayuda en la utilización del hierro y a menudo muestra un efecto de ahorro significativo, o un efecto protector, sobre varias vitaminas del complejo B incluyendo la tiamina, la riboflavina, el ácido fólico y el ácido pantoténico, así como sobre las vitaminas A y E (T. Terroine, *Nutrio Dieta* 4, 148 (1962)). Este efecto parece depender de su capacidad reductora o antioxidante. En el caso del ácido fólico implica la conversión de éste a factor citrovorum. F.S. Daft y colaboradores han mostrado que ingestas altas de ácido ascórbico pueden resultar en la rata, en un marcado efecto de ahorro sobre el requerimiento de varias vitaminas del complejo B. Se encontró que el efecto es causado principalmente por cambios en la flora intestinal que resultan en síntesis de cantidades disponibles de vitaminas del complejo B. S.M. Levenson y colaboradores (*Arch. Int. Med.* 110, 693 (1962)) observaron, en estudios que cobayos libres de gérmenes con dietas libres de vitamina C, tenían una sobrevida de 44 días, en contraste con animales controles en un ambiente microbiológico normal que tenían un promedio de sobrevida de 27 días. Los animales libres de gérmenes también crecieron más rápido, alcanzaron un peso mayor, consumieron más alimento y mostraron menos hemorragias en las articulaciones.

Inyecciones moderadas de toxina de difteria causan pérdidas de ácido ascórbico de los tejidos glandulares del cobayo que alcanzan hasta un 33%. Ingestas previas de la vitamina al nivel de 5 a 10 miligramos por día garantizan mayor protección contra el daño causado por la toxina que ingestas menores, particularmente en los odontoblastos y tejido subcutáneo. Existe evidencia de efecto similar en el humano.

Tanto el hombre como el cobayo con una ingesta baja de vitamina C, pierden la capacidad de utilizar normalmente el aminoácido tirosina y pueden excretar grandes cantidades del producto intermediario p-hidroxifenilpiruvato. Aparentemente la deficiencia resulta en un aumento en la actividad de una enzima que conduce a la formación de p-hidroxifenilpiruvato y en un descenso en otra enzima que cataliza la oxidación del mismo (M.N.D. Goswami y W.E. Knox, *J. Chronic Dis.* 16, 363 (1963)). Artículos anteriores han mostrado muchos ejemplos notables de cambios en la actividad de enzimas específicas resultantes de bajas ingestas de ácido ascórbico.

El papel del ácido ascórbico como coenzima en la hidrólisis de los glucósidos del aceite de mostaza ha sido muy poco estudiado tal como lo informan M.D. Ettlinger y A.J. Lundeen (*J. Am. Chem. Soc.* 78, 4172 (1956)).

El catabolismo del ácido ascórbico puede resultar en la producción de dióxido de carbono u oxalato, o la vitamina puede excretarse en la orina, según las circunstancias (*Nutrition Reviews* 22, 7 (1964)). No existe una clara explicación concerniente a las pérdidas ocasionadas por intervenciones quirúrgicas mayores, toxinas bacterianas, o quemaduras severas. Sin embargo, algunos cirujanos que han estudiado el problema sugieren la administración de 150 a 200 mg por día en el período post-operatorio para restaurar valores normales de ácido ascórbico en la sangre y en los leucocitos (*ver Nutrition Reviews* 20, 328 (1962)).

En alimentos ácidos, tales como el tomate y los jugos de frutas cítricas, la vitamina es bastante estable a la temperatura ambiente, o aún al calor si no hay contaminación por el uso de

equipo de cobre; bajo estas condiciones el ácido ascórbico se preserva normalmente en un 50 u 80% en productos cocidos, enlatados, congelados y liofilizados. El grado de deshidratación óptimo para máxima estabilidad parece ser equivalente a la cantidad suficiente de agua para cubrir las superficies con una capa monomolecular. Por lo general, verduras crudas machacadas, o finamente picadas, pierden su contenido de ácido ascórbico rápidamente, debido a la exposición al aire y a la presencia de enzimas que contienen cobre y que catalizan la oxidación.

Estudios recientes sobre la oxidación del ácido ascórbico y la reducción del ácido dehidroascórbico confirman el concepto de que en este proceso se forma un compuesto intermediario altamente reactivo (monodehidroascorbato) caracterizado en el punto medio por una estructura de radical libre (H.S. Mason, *Ann. Rev. Biochem.* **34**, 595, 599 (1965)). Este mismo intermediario juega un papel dominante en la función de la vitamina como catalizador en respiración celular (*Nutrition Reviews* **15**, 184 (1957)).

En vista del gran número de enzimas y sustancias simples presentes en todas las células vivas que son reducidas por el ácido ascórbico u oxidadas por el ácido dehidroascórbico resultante, es fácil de concebir que variaciones en la concentración de las formas libremente circulantes de la vitamina causen cambios notables en actividad enzimática. En consecuencia no es sorprendente que para mantener una función óptima y como corolario un estado de salud, sea necesaria una concentración de ácido ascórbico dentro de ciertos límites normales.

Esto tiene implicaciones en cuanto a las recomendaciones dietéticas para ácido ascórbico. A pesar de que aproximadamente 10 miligramos de ácido ascórbico por día pueden proteger a un adulto contra el escorbuto por uno o dos años, esto no significa que esa ingesta sea óptima ni mucho menos. Deben tomarse en cuenta otros factores. Para mantener concentraciones de ácido ascórbico en los tejidos humanos en la magnitud encontrada en personas que consumen dietas mixtas incluyendo cantidades regulares de alimentos frescos, se necesitan de 50 a 150 miligramos por día. Las reservas tisulares resultantes se encuentran, bajo estas condiciones, dentro de los límites característicos de casi todos los animales que sintetizan la vitamina bajo control fisiológico, o de los primates y el cobayo alimentados con unas dietas mixtas naturales.

Ensayos controlados cuidadosamente conducidos en animales también apuntan en la misma dirección. Cobayos en crecimiento son protegidos contra el escorbuto con 0.5 mg de ácido ascórbico por día, pero se necesitan de 5.0 a 10.0 mg para protección óptima contra las demandas de la reproducción y la lactancia, para resistencia a las toxinas bacterianas, sobrevivencia bajo condiciones de stress tales como exposición al frío, infecciones y trauma severo. Además una madre que recibe una típica dieta mixta proporciona al lactante aproximadamente 20 a 25 mg de ácido ascórbico por día, nivel de ingesta que mantiene reservas tisulares normales. En vista de la evidencia disponible, la junta de alimentación y nutrición de la Academia Nacional de Ciencias-Consejo Nacional de Investigación (EUA), recomienda una ingesta diaria de 70 mg por día para adultos normales, 100 mg para madres lactantes, 30 mg para niños lactantes, y 80 mg para adolescentes de 15 años de edad. J. Masek (*World Rev. Nutrition Dietet.* **3**, 149 (1962)), sugiere también 80 mg por día como la cantidad recomendada.

Durante los últimos 50 años, han ocurrido muchos cambios en el patrón dietético de los Estados Unidos y de otros países occidentales. Uno de éstos ha sido el hecho de que se dependa cada vez menos de papas frescas, camote, manzanas y repollo como fuentes de vitamina C, dependiendo más y más de frutas cítricas y tomates para tal propósito. Melones y fresas son también fuentes buenas y apetecibles, así como los chiles verdes y el brocoli. Como consecuen-

cia, el escorbuto se ha vuelto una enfermedad rara y la mayoría de la población mantiene concentraciones tisulares satisfactorias de ácido ascórbico (K.R. Stitt, en *Nutrition Reviews* 21, 257 (1963)).

La ingesta promedio diaria en los Estados Unidos ha aumentado de 69 a 117 mg. Sin embargo, casos ocasionales de escorbuto se observan aún entre niños lactantes, niños pequeños y ancianos, como resultado del consumo de dietas severamente restringidas. Otros factores favorables han sido el incremento en el uso de refrigeración, la alta calidad de los productos enlatados y congelados, y el uso decreciente de utensilios de cobre en la preparación de los alimentos. Además, es práctica bastante común el agregar ácido ascórbico a productos alimenticios con fines independientes de su papel como nutriente, sino más bien como antioxidante para proteger el sabor y el color naturales.

CAPITULO XIX

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE LA VITAMINA D

Gilbert B. Forbes, M.D.

La sustancia antirraquítica conocida como vitamina D es esencial para la mayoría de las especies de vertebrados. La vitamina puede hacerse disponible al cuerpo tanto como vitamina preformada en la dieta, como mediante la acción de la luz ultravioleta sobre el integumento, proceso que transforma la provitamina D₃ a la forma activa. De aquí que el raquitismo nutricional sea una deficiencia doble, cuyo desarrollo requiere de la falta simultánea de vitamina D en la dieta y de luz solar.

La vitamina D es una sustancia muy potente. Una ingesta diaria de 2.5 a 10 μ g (equivalente a 100 - 400 U.I.) previene el raquitismo en los niños, pero 1 a 2 mg diarios pueden ser tóxicos si se ingieren por períodos largos. Desde el punto de vista químico las provitaminas ergosterol y 7-dehidrocolesterol consisten de un núcleo substituído del ciclopentano-perhidro-fenantreno, con intensa absorción máxima a 271, 282, y 293 m μ . La formación de las vitaminas D₂ y D₃ de las provitaminas respectivas implica la apertura del anillo B bajo la influencia de la radiación ultravioleta. En este proceso también se forman otros compuestos con propiedades antirraquíticas débiles, tales como el lumisterol y el taquisterol.

El ergosterol se encuentra en ciertos hongos y levaduras, mientras que el 7-dehidrocolesterol ocurre en animales principalmente en la piel y en la mucosa duodenal. La vitamina D como tal, se encuentra en cantidades apreciables sólo en ciertos aceites de hígado de peces. El proceso metabólico de síntesis de la vitamina en el pez es desconocido. Otros alimentos son fuentes bastante pobres de las vitaminas: el hígado de mamíferos contiene de 1 a 4 U.I. por gramo, la yema del huevo de 1 a 5 U.I. por gramo, la leche de 3 a 100 U.I. por litro. Los animales pueden sintetizar el 7-dehidrocolesterol a partir del colesterol.

Muchos alimentos son fortificados actualmente con vitamina D. Entre ellos están la mayoría de las leches comerciales y productos formulados para niños; en efecto, la fortificación de la leche evaporada es requerida por la ley. No hay duda de que la extrema rareza del raquitismo infantil en los Estados Unidos hoy día, se debe en gran parte a la fortificación de la leche como práctica generalizada.

Otros alimentos fortificados incluyen marcas de margarina, cacao, mezclas de chocolate y cereales. Una comunicación reciente del Comité de Nutrición de la Academia Americana de Pediatría (*Pediatrics* 31, 512 (1963)) resume este aspecto para los Estados Unidos y el Canadá. La ingesta estimada de vitamina D del niño moderno varía ampliamente; rara vez es menor de 400 U.I. por día, y puede ser de hasta 2,900 U.I. en los Estados Unidos y 4,000 U.I. en el Canadá. Es obvio que la fortificación de los alimentos debe tomarse en consideración en la planificación de dietas modernas, y en la decisión sobre la necesidad de suplementos adicionales de vitamina D.

La práctica industrial conocida como "overage" en la literatura en inglés, complica aún más la saturación. Puesto que las regulaciones de etiquetado requieren que los alimentos procesados con aditivos, llenen ciertos estándares mínimos, y puesto que la vitamina D se deteriora lentamente durante el almacenaje, algunas firmas británicas han caído en la práctica de añadir más vitamina D que la que se especifica en las etiquetas. No se sabe con certeza si esta práctica existe de una manera apreciable en los Estados Unidos.

Puesto que la luz solar es antirraquítica, es imposible establecer el requerimiento dietético de vitamina D sin un conocimiento previo del grado de exposición a la luz solar. La falta de luz solar es responsable por la incidencia geográfica del raquitismo, el cual es raro en los trópicos, y fue primariamente común en el pasado en las ciudades neblinosas del norte de Europa. La aparición de raquitismo en regiones subtropicales en niños que se mantienen encerrados es otra prueba de que es la luz solar disponible y no otro factor climático el responsable de esta variación. El raquitismo es una enfermedad de los huesos en crecimiento, y por lo tanto la necesidad de vitamina D está relacionada con la velocidad de crecimiento.

La aparición ocasional de raquitismo al final de la niñez y en la adolescencia indican que la vitamina D es esencial a través de todo el período de crecimiento. La osteomalacia puede afectar a adultos cuyos hábitos los mantienen protegidos de la luz solar. El Consejo Nacional de Investigación de los Estados Unidos recomienda un total de 400 U.I. diarias, de todas las fuentes dietéticas, para lactantes, niños, y mujeres embarazadas o lactantes. En vista de que algunos estudios han indicado que 100 a 200 U.I. son suficientes para el lactante, 400 U.I. conllevan un margen generoso de seguridad. No se da una estimación de la recomendación para el adulto; es probable que el requerimiento sea tan pequeño que pueda satisfacerse con la exposición casual a la luz solar. Es bien sabido que el raquitismo humano puede curarse por exposiciones breves y repetidas al sol o a la luz ultravioleta artificial.

El Comité de Nutrición de la Academia Americana de Pediatría ha expuesto su posición de la manera siguiente: "...en vista de la evidencia actual, el Comité de Nutrición considera que los médicos y las autoridades de Salud Pública deben hacer todo lo posible para asegurarse de que la ingesta total de vitamina D de todos los lactantes alcance la recomendación de 400 U.I. por día; pero al mismo tiempo, deben concentrar esfuerzos para restringir el límite superior de la ingesta de todas las fuentes, a una cantidad lo más cercana posible de esta cifra. Esto demanda un conocimiento de la cantidad de vitamina D contribuida por la fórmula y otros componentes de la dieta antes de prescribir un suplemento de vitamina D, y exige que se preste atención a la cantidad de vitamina D aportada por el suplemento escogido."

"Requiere también una intensificación de esfuerzos para disipar de las mentes de los padres el concepto de las vitaminas como tónicos.... Aunque no hay evidencia específica de que una ingesta diaria de vitamina D de 2,000 a 3,000 U.I. produzca efectos dañinos en individuos o en sujetos más allá de la edad de lactancia, debe enfatizarse que la tendencia actual en nutrición es imponer una nueva situación sobre los niños y adultos de Norte América, cuyo efecto a largo plazo es totalmente desconocido" (*Pediatrics* 31, 512 (1963)).

Existen variaciones interesantes con referencia al requerimiento de vitamina D de diferentes especies. En el pollo, la vitamina D₂ exhibe sólo un décimo de la potencia de la vitamina D₃. Sin embargo, P.S. Chen, Jr. y H.B. Bosmann (*J. Nutrition* 83, 133 (1964)), han demostrado que esta especie requiere solamente una ingesta diaria de 6 U.I. para el crecimiento adecuado del hueso y para la homeóstasis del calcio, esto es, una cantidad aproximadamente equivalente a la requerida por el niño lactante en base al peso corporal. La rata es un animal insólito por su

resistencia al raquitismo experimental a menos que la razón Ca:P de la dieta sea anormal. La pregunta de porqué el raquitismo no se desarrolla en pájaros y animales con pieles peludas en su ambiente natural es un enigma. Se supone que los aceites de la piel contienen provitamina D la cual después de activada por la luz solar, es ingerida mediante la acción de lamer.

Se han iniciado estudios en varios laboratorios sobre la distribución y metabolismo de la vitamina D marcada (*ver* Bosmann y Chen, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 120, 30 (1965)). Tales estudios se complican por el hecho de que la vitamina activa debe distinguirse de los productos de degradación que todavía pueden contener el radioisótopo.

Investigaciones recientes han sido enfocadas apropiadamente sobre el mecanismo de acción de la vitamina D. El estímulo para estos estudios ha provenido de tres fuentes: (1) la demostración de que muchas sustancias son transportadas activamente a través de la mucosa intestinal; (2) el desarrollo de la técnica de las asas evertidas de intestino; y (3) la demostración de que cantidades mínimas de un número de sustancias activas, tales como hormonas, ejercen su acción por medio del estímulo de la síntesis de RNA.

Por muchas años se ha sabido que la vitamina D promueve la absorción intestinal de calcio (hay evidencia contradictoria con referencia al fósforo); ésto parece ser cierto para la mayoría de los elementos del grupo II de la tabla periódica (N.A. Worker y B.B. Migicovsky, *J. Nutrition* 75, 222 (1961)). Recientemente se ha demostrado por la técnica de las asas evertidas, que el calcio es transportado activamente, esto es, se mueve en contra de una gradiente de concentración a través de la pared intestinal (D. Schachter y S.M. Rosen, *Am. J. Physiol.* 196, 357 (1959); H.E. Harrison y H.C. Harrison, *Ibid.* 199, 265 (1960)).

El transporte de calcio es mínimo en animales deficientes en vitamina D, y se estimula ampliamente por la vitamina D, particularmente cuando ésta se le da al animal intacto antes de hacer la preparación del asa. Además, el efecto de la vitamina D puede ser bloqueado por la actinomicina D, sustancia que inhibe la síntesis de RNA.

A.W. Norman (*Am. J. Physiol.* 211, 829 (1966)) ha demostrado en estudios sobre la absorción de ^{45}Ca en pollos raquíticos, que la vitamina D ejerce su acción sólo después de un período de varias horas de administrada. La actinomicina D bloquea la acción de la vitamina sólo si se administra dentro de las tres horas siguientes a la administración de ésta. Además, la vitamina D causa un incremento rápido en la velocidad de incorporación de tritio (de uridina tritrada) en el RNA de la mucosa intestinal. Este incremento también es inhibido por la actinomicina D. R.H. Wasserman y A.N. Taylor (*Science* 152, 791 (1966)) presentaron evidencia de que la administración de vitamina D induce la elaboración de un factor ligante del calcio (una proteína) por la mucosa intestinal. Así pues, la evidencia es consistente con la hipótesis de que la vitamina D actúa como iniciador de la síntesis de enzimas en la mucosa intestinal y que éstas a su vez intervienen en el transporte activo del calcio.

La vitamina D puede también actuar sobre el riñón. H.F. DeLuca, G.W. Engstrom y H. Rasmussen, (*Proc. Nat. Acad. Sci.* 48, 1604 (1962)) encontraron que la vitamina afecta la presa de ^{45}Ca por las mitocondrias del riñón. El raquitismo humano se encuentra asociado con una aminoaciduria.

Debe recordarse que dosis grandes (farmacológicas) de vitamina D producen efectos diferentes de aquellos inducidos por cantidades fisiológicas. Ambas promueven la absorción de calcio, pero las dosis grandes causan disolución del hueso e hipercalcemia.

El raquitismo por deficiencia de vitamina D es prácticamente una enfermedad del pasado, por lo que ahora se da una atención creciente a los posibles efectos dañinos causados por la sobredosis. Como se mencionó anteriormente, la dieta americana es abundante en vitamina D. Existe buena evidencia de que pacientes con sarcoidosis son hipertensibles a esta vitamina, y como ya se dijo, las dosis grandes producen efectos tóxicos tanto en animales como en el hombre. La evidencia epidemiológica se vuelca en apoyo del concepto de que la forma leve del síndrome de hipercalcemia infantil es el resultado de una ingesta excesiva de vitamina D. En Gran Bretaña, donde hace una década este síndrome mostraba su mayor incidencia, la ingesta de vitamina D en los lactantes era de 1,000 a 4,000 U.I., esto es 5 a 20 veces el requerimiento. Además la mayoría de los lactantes se alimentaban con leche de vaca, la cual provee aproximadamente tres veces más calcio que la leche humana, (la toxicidad de la vitamina D se estimula cuando existen altas ingestas de calcio); la mayoría respondían satisfactoriamente a una dieta baja en calcio y en vitamina D (R.G. Mitchell, *Arch. Dis. Child.* 35, 383 (1960)).

Por otra parte, el papel que pueda jugar la vitamina D en la forma severa del síndrome de hipercalcemia infantil, el cual se acompaña de estenosis aórtica, facies peculiar, y retardo mental, no está bien establecido (D. Fraser, B.S. Kidd, S.W. Kooh, y L. Paunier, *Ped. Clin. N. Am.* 13, 503 (1966)). Estos niños probablemente sufren de un error congénito del metabolismo todavía desconocido. Sin embargo, algunos muestran una respuesta parcial (incremento en la tasa de crecimiento, desaparición de la osteoesclerosis) a una dieta baja en calcio y en vitamina D.

Quizás sea tiempo de que el nutricionista reexamine las bases para el requerimiento de vitamina D, el cual corrientemente se ha considerado independiente de la masa corporal, ya que la necesidad de la vitamina A y de ciertos miembros del Grupo B son función del peso corporal. Dosis diarias de 10,000 a 20,000 U.I. de vitamina D ingeridas durante un período de tiempo son tóxicas para los adultos (S.T. Anning, J. Dawson, D.E. Dolby y J.T. Ingram, *Quart J. Med.* 17, 203 (1948)). Esto equivale a 150 a 300 U.I. por kilogramo de peso, lo que sugiere que, manteniendo otros factores iguales, una dosis diaria de 750 a 1,500 U.I. podría ser tóxica para un niño de 5 kg. Muchos niños reciben esta dosis hoy en día; quizás debería uno maravillarse no tanto de la baja incidencia de de raquitismo como de la rareza de toxicidad manifiesta, fenómeno que da testimonio de la "estamina" del lactante moderno.

Hay dos artículos recientes de interés. W.F. Loomis (*Science* 157, 501 (1967)) ha discutido el papel del pigmento de la piel en la regulación de la síntesis de vitamina D en el hombre. El sugiere que el color de la piel, el cual se reconoce como una función de la latitud, es una adaptación que provee, tanto protección contra el raquitismo, como minimización de la síntesis excesiva de vitamina D en las regiones ecuatoriales. H. Morii y DeLuca (*Am. J. Physiol.* 213, 358 (1967)) mostraron que, en contraste con la hormona paratiroidea, la acción de la tirocalcitonina es independiente de la vitamina D.

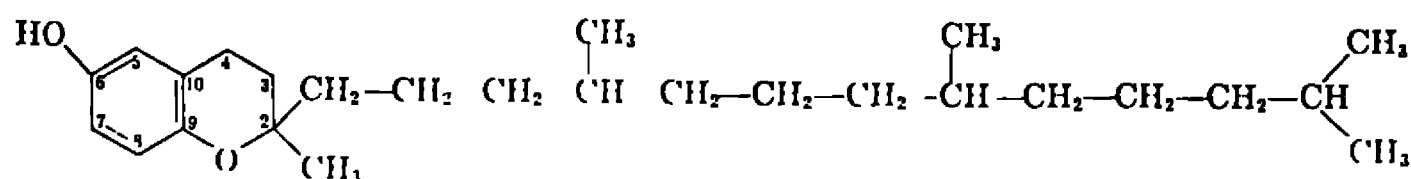
CAPITULO XX

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE VITAMINA E

Oswald A. Roels, Ph.D.

El descubrimiento de la vitamina E data de la observación de que ratas, machos y hembras, no lograban reproducirse normalmente cuando se mantenían en dietas preparadas con ingredientes purificados, incluyendo grasa, proteínas, carbohidratos, minerales, más los factores de crecimiento que se conocían en 1922. La adición de lechuga fresca, levadura, trigo, avena, grasa de leche, carne o alfalfa seca, restauraba la capacidad reproductiva normal de los animales. El factor activo podía ser extraído de estos alimentos con solventes orgánicos. El compuesto por lo tanto, se clasificó como una vitamina liposoluble y se le llamó tocoferol.

Durante las últimas décadas se han descubierto una serie de compuestos relacionados químicamente con la vitamina E: cuatro tocoferoles que ocurren en la naturaleza y sus correspondientes tocotrienoles. Todos los compuestos de la serie de la vitamina E pueden ser considerados como derivados de un compuesto hipotético, 2-metil-2-(4, 8, 12-trimetiltridecil)-6-cromanol, o TOCOL:



El alfa-tocoferol es el compuesto 5, 7, 8-trimetil tocol, o sea el derivado con grupos metilo en átomos de carbono 5, 7 y 8 del anillo. Beta-tocoferol es el 5,8-dimetil tocol; gama-tocoferol es el 7,8-dimetil tocol; delta-tocoferol es el 8-metil tocol; zeta 2-tocoferol es el 5,7,8-trimetil tocol con dobles uniones adicionales entre los átomos de carbono 3 a 4, 7 a 8 y 11 a 12 en la cadena lateral ó 5,7,8-trimetil tocotrienol; eta-tocoferol es el 7,8-dimetil tocol con doble unión entre los carbonos 3 a 4, 7 a 8 y 11 a 12 en la cadena lateral o 7,8-dimetil tocotrienol; ha sido demostrado que el epsilon-tocoferol es el 5,8-dimetil tocol con dobles uniones en las mismas posiciones de la cadena lateral o 5,8-dimetil tocotrienol; y delta-tocotrienol es el 8-metil tocol con dobles uniones entre los carbonos 3 a 4, 7 a 8, y 11 a 12 (J.Glover, en *Biochemistry of Quinones*, R.A. Morton, Editor, p. 248. Academic Press, New York, 1965).

Actualmente, los tocoferoles se aislan en escala comercial a partir de aceites vegetales, generalmente por destilización molecular, extracción con solventes orgánicos o absorción cromatográfica. El alfa-tocoferol generalmente es el más importante homólogo aislado de estas fuentes; también puede ser preparado sintéticamente.

El alfa-tocoferol absorbido del intestino canulado de ratas aparece en la linfa de los animales, indicando una ruta de absorción linfática. La vitamina E se almacena en el hígado, y aquí parece existir una correlación lineal entre la cantidad de tocoferol en la dieta y el almacenamiento

hepático, aunque esto puede no suceder con ingestas sumamente elevadas de tocoferol. El almacenamiento máximo ocurre aproximadamente 6 horas después de la administración de la vitamina. El acetato de DL-alfa-tocoferol se absorbe mucho más lentamente que el alcohol libre. La mayoría del tocoferol almacenado en la célula hepática parece encontrarse asociado con sus partes estructurales, específicamente mitocondrias y microsomas.

La actividad biológica relativa de los homólogos del tocoferol varía grandemente con la estructura química (J. Bunyan, D. McHale, J. Green, y S. Marcinkiewicz, *Brit. J. Nutrition* 15, 253 (1961)). El alfa-tocoferol es el compuesto de mayor actividad biológica. El beta-tocoferol y el alfa-tocotrienol tienen aproximadamente 1/3 de la actividad del alfa-tocoferol y los otros homólogos muestran relativamente poca actividad biológica.

S.R. Ames, M.I. Ludwig, D.R. Nelan, y C.D. Robeson (*Biochemistry* 2, 188 (1963)) encontraron que los acetatos isoméricos de 2-L-alfa-tocoferol y DL-alfa-tocoferol tenían respectivamente 21 y 60% de la actividad del acetato de D-alfa-tocoferol en el bio-ensayo de gestación y reabsorción en ratas. No se encontró evidencia de un efecto sinérgico de estos dos isómeros en la función biológica. Posteriormente, estas actividades relativas han sido conformadas en otras condiciones de deficiencia de vitamina E, incluyendo encefalomalacia en el pollo y distrofia en el pollo, la rata y el conejo.

Una revisión de la disponibilidad biológica de diversas formas de vitamina E con respecto a diversos índices de deficiencia ha sido publicada recientemente por B. Century y M.K. Horwitt (*Fed. Proc.* 24 (4), Part I, 906 (1965)).

I.B. Desai, C.K. Barekh, y M.L. Scott (*Biochim. Biophys. Acta* 100, 280 (1965)) han demostrado que las velocidades de absorción para los epímeros D y L del acetato de alfa-tocoferol en intestinos de polluelos normales y distróficos son similares. El sub-comité para los patrones de vitamina E del Animal Research Council ha mostrado que la potencia relativa del D-alfa-tocoferol es 1.2 veces mayor que la de la forma de DL.

La deficiencia de vitamina E ocasiona una gran variedad de síntomas en diferentes especies animales y puede afectar muchos tejidos distintos: como ya se mencionó, la habilidad reproductiva se afecta tanto en ratas machos como hembras. La hembra puede concebir normalmente, pero el feto muere y se reabsorbe. En el macho, existe una marcada atrofia en los testículos, frecuentemente resultando en esterilidad. En pavos y gallinas, el efecto adverso de la deficiencia de vitamina E en la reproducción resulta en una alta incidencia de anomalías embrionarias y elevada mortalidad con un consecuente bajo número de crías. El descubrimiento de que la vitamina E era indispensable al grillo casero (*Acheta doméstica*) para su actividad normal espermatogénica y la producción de huevos, indica que el alfa-tocoferol puede ser importante para la reproducción en una gran variedad de especies.

Uno de los síntomas más frecuentes de deficiencia de vitamina E, en muchos animales es la distrofia muscular. Esta ha sido observada en el perro, el cobayo, el conejo, el polluelo, y el mono de la familia *Rhesus*. Mientras que la musculatura voluntaria se afecta primordialmente en estos animales, en animales hervíboros ocurre también una degeneración miocárdica.

Los cerditos deficientes en vitamina E sufren de degeneración del músculo esquelético y cardíaco, degeneración del hígado y creatinuria. La necrosis hepática y la distrofia muscular no ocurren en ratas jóvenes en ayunas pero sí ocurren en ratas deficientes mantenidas con dietas de contenido proteico normal, bajo o libre de proteínas. La distrofia muscular nutricional también aparece en ovejas recién nacidas cuando a éstas se les administra una dieta deficiente de vitamina E. Necrosis hepática fatal ha sido desarrollada en el cerdo.

En el polluelo que sufre de deficiencia de vitamina E se observan síntomas neurológicos; la encefalomalacia es común. El epitelio también se afecta y se origina una diátesis exudativa masiva.

Se ha observado anemia, particularmente en el mono *Rhesus*. En este animal, el músculo esquelético y la médula ósea son los tejidos mayormente afectados. En el bisón joven deficiente en alfa-tocoferol la alteración hematológica más significativa fue un aumento en la fragilidad eritrocitaria.

En humanos, ha sido demostrado por F. Gerloczy y B. Bencze (*Acta Paediat. Hung.* 2, 4 (1961)) que el esclerema neonatorum (que consiste en un tipo de edema más comunmente en el lactante humano prematuro) puede ser curado por la administración oral de acetato de tocoferol; la terapia con vitamina E redujo a una séptima parte la mortalidad consecutiva a esta enfermedad. Los autores encontraron niveles extremadamente bajos de tocoferol en el suero de lactantes prematuros e imputaron la actividad terapéutica de la vitamina E a su influencia en la fragilidad capilar.

A.S. Majaj *et al.* (*Am. J. Clin. Nutrition* 12, 374 (1963)) han demostrado que niños lactantes Jordanos con kwashiorkor severo, y anemia macrocítica y creatinuria, obtenían una mejoría de la anemia después de la administración de fosfato de tocoferil y de acetato de tocoferil. La excreción urinaria de creatina disminuía y existía un rápido aumento en los reticulocitos seguido por un aumento en hematocrito, conteo de glóbulos rojos y concentración de hemoglobina.

Horwitt (*Am. J. Clin. Nutrition* 8, 451 (1960)) sostiene que el alfa-tocoferol es importante en la dieta del hombre y que los requerimientos humanos dependen de la ingesta de ácidos grasos no saturados. Este concepto tuvo su origen en el resultado del estudio de un grupo de sujetos varones adultos que fueron puestos en una dieta deficiente en vitamina E por períodos largos de tiempo. Se encontró que la resistencia de sus eritrocitos a hemólisis, cuando se incubaban *in vitro* en presencia de peróxido de hidrógeno, estaba directamente relacionada a su ingesta dietética de alfa-tocoferol inversamente proporcional a la ingesta de ácidos grasos poli-insaturados.

No está claro aún cuál es el significado fisiológico de una disminución de la resistencia de los eritrocitos a la hemólisis inducida por peróxidos *in vitro*. Como consecuencia de estos estudios, Horwitt ha recomendado la ingesta diaria de 5 mgs. de alfa-tocoferol cuando la dieta es baja en grasa no-saturada. Cuando se administran dietas conteniendo mayor cantidad de grasas poli-insaturadas, Horwitt recomienda 30 mgs. de alfa-tocoferol al día. Debe de ser enfatizado aquí que el contenido de tocoferol de los aceites naturales y grasas es generalmente proporcional a su grado de insaturación.

Muy poco se conoce acerca de los efectos de excesos de ingesta de tocoferol en el hombre. R.W. Hillman (*Am. J. Clin. Nutrition* 5, 597 (1957)), reportó un adulto varón normal que ingirió 296 gramos de alfa-tocoferol durante un período de 93 días, con el resultante alto nivel de esta vitamina en el plasma (2.26 mgs. por 100 ml.). Una creatinuria significativa pero transitoria ocurrió durante la prueba pero aparentemente no hubo cambio en la excreción de creatina o de 17 cetosteroides. El autor no pudo detectar ningún signo de toxicidad clínica.

J.G. Bieri, L. Teets, B. Belavady y E.L. Andrews (*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 117, 131 (1964)) determinaron los niveles de vitamina E en el suero de una población normal adulta urbana y no encontraron valores abajo de 0.5 mgs. por 100 ml.; 6.1% se encontraron por debajo de 0.7 mgs. por 100 ml.; 70% tenían valores entre 0.8 y 1.39 mgs. por 100 ml. y 9.2% presentaban valores más altos. M.M. Rahman *et al.* (*Ibid.* 117, 133 (1964)) examinaron los niveles de vitamina E en el suero en una población rural de Pakistán, utilizando exactamente la misma técnica que Bieri y sus colaboradores. En este estudio se encontró que el 21% de la muestra de la población exami-

nada tenía niveles séricos de alfa-tocoferol por abajo de 0.5 mgs. por 100 ml. y 11.2% de la muestra tenía valores inferiores a 0.4 mgs. por 100 ml.

En general, es difícil comparar niveles séricos de tocoferol de diferentes áreas debido a que se han empleado diferentes métodos por diversos autores y muchas determinaciones pueden no ser de confianza. El procedimiento analítico se basa en general en la reacción colorimétrica que depende del potencial de oxido-reducción de las muestras examinadas. Por consiguiente, frecuentemente se miden sustancias reductoras totales en lugar de específicamente alfa-tocoferol. M.Y. Dju, K.E. Mason y L.J. Filer, Jr. (*Am. J. Clin. Nutrition* 6, 50 (1958)) midieron el contenido de tocoferol de tejidos humanos desde el nacimiento hasta edades avanzadas en muestras de autopsia de 70 individuos. Encontraron que era preferible expresar los niveles de tocoferol en base a miligramos de tocoferol por gramo de grasa que por gramo de tejido.

Los niveles de tocoferol en el pulmón, riñón, bazo y pancreas, se encontraron similares a los del hígado, músculo esquelético y corazón. En la pituitaria, testículos y adrenales, sin embargo, los niveles eran considerablemente más altos. Se observaron amplias variaciones entre individuos. Los autores concluyen que la diferencia en el contenido de tocoferol de los tejidos humanos es causada en gran parte por cambios en la ingesta dietética y en la absorción de este compuesto.

Aunque ahora se conoce bien que la vitamina E está ampliamente distribuida en la naturaleza y que la deficiencia causa una variedad de síntomas en muchas especies, su función exacta a nivel molecular en los procesos biológicos todavía no es adecuadamente comprendida. Muchos investigadores han demostrado que los síntomas de enfermedad causados por la ausencia de vitamina E pueden ser curados o prevenidos por una variedad de anti-oxidantes. Como consecuencia, se ha sugerido que la única función del alfa-tocoferol en sistemas biológicos es la de un anti-oxidante liposoluble que previene la formación de peróxidos a partir de ácidos grasos poli-insaturados.

Así, H.H. Draper *et al.* (*J. Nutrition* 84, 395 (1964)) encontraron que cuando ratas eran alimentadas con una dieta altamente purificada, deficiente en vitamina E, las hembras no se reproducían. Cuando el anti-oxidante sintético N N'-difetil-p-fenilendiamina (DPPD) se agregaba a la dieta a niveles bastante bajos, la capacidad reproductiva era restaurada. Bieri (*Biochem. Pharmacol.* 13, 1465 (1964)) demostró que varios anti-oxidantes sintéticos administrados a polluelos a niveles relativamente altos era inefectivos en prevenir la diátesis exudativa y la mortalidad, cuando la dieta era deficiente tanto en selenio como en vitamina E. Sin embargo, cuando junto con los anti-oxidantes se administraba ya sea selenito o acetato de alfa-tocoferol, los signos de deficiencia y la mortalidad eran prevenidos indicando que existe un efecto sinérgico entre anti-oxidantes y selenio o vitamina E.

Había sido ya demostrado con anterioridad que el apareamiento de los síntomas de la deficiencia de vitamina E en el polluelo podía ser acelerada por un aumento en la administración de ácidos grasos poli-insaturados en la dieta y que la deficiencia de la vitamina E podía ser retrasada en el mismo animal agregando algún anti-oxidante conocido. La adición de DPPD no tiene un efecto de "ahorro" sobre el tocoferol almacenado en el hígado de conejos en crecimiento ni de ratas alimentadas con una dieta deficiente en vitamina E. Se ha también informado que el ácido ascórbico protege a los polluelos de las lesiones características de la deficiencia de vitamina E aún cuando estén recibiendo niveles dietéticos elevados de grasas poli-insaturadas.

F. Christensen, H. Dam, y R.A. Gortner (*Acta Physiol. Scandinav.* 36, 82, 87, 97 (1956)), creen que el alfa-tocoferol puede ser más que un simple anti-oxidante; anti-oxidantes sintéticos pueden prevenir solamente algunos síntomas de deficiencia de vitamina E en la rata y en el po-

lluelo. Así, algunos anti-oxidantes pueden prevenir la encefalomalasia pero no la degeneración muscular en el polluelo. Otros anti-oxidantes pueden prevenir la distrofia muscular pero no la encefalomalasia.

Interesantes observaciones sobre el papel fisiológico de la vitamina E han provenido de J.S. Dinning, P.L. Day y C.D. Fitch (*ver Nutrition Reviews* 21, 289 (1963)). Estos trabajadores han estudiado el mono *Rhesus* con una dieta libre de tocoferol durante períodos largos de tiempo. Ellos encontraron distrofia muscular, creatinuria, anemia y varios otros síntomas hematológicos en sus animales deficientes. Las lesiones patológicas del músculo esquelético y de la médula ósea eran obvias. Todos estos síntomas podían ser curados y restablecidos por la administración de acetato de alfa-tocoferil o del fosfato de este compuesto, mientras que el DPPD causaba únicamente una restauración parcial.

El 6-cromanol de la hexahidrocoenzima Q₄ también restaura todos los síntomas de la deficiencia de alfa-tocoferol. El mismo compuesto cura la distrofia muscular inducida en el conejo por deficiencia de vitamina E. Persiste la posibilidad de que el efecto preventivo de anti-oxidantes sintéticos pueda deberse a su acción protectora contra la oxidación de los depósitos residuales de alfa-tocoferol. Aún más, los niveles de "peróxidos" encontrados en diferentes tejidos de animales deficientes en vitamina E muy bien pueden haber sido artificios manipulativos.

Una serie de informes publicados por K. Schwarz y colaboradores (Schwarz y C.M. Foltz, *Fed. Proc.* 19, 421 (1960)) han indicado que existe una asociación fisiológica compleja entre el selenio y el alfa-tocoferol. Ambas sustancias previenen la diátesis exudativa en el polluelo, pero el selenio no previene la distrofia muscular del conejo que recibe una dieta deficiente de vitamina E ni tampoco previene la reabsorción del feto en ratas preñadas. Schwarz *et al.* por lo tanto concluyen que hay un primer grupo de enfermedades que se debe principalmente a deficiencia de vitamina E, el que no es influenciado por selenio. Un segundo grupo es causado principalmente por deficiencia de selenio y es únicamente parcialmente afectado por vitamina E; mientras que a un tercer grupo es causado por la deficiencia simultánea de vitamina E y selenio: tal es la necrosis hepática en ratas y la necrosis múltiple en el ratón.

Esta historia ha sido complicada aún más al demostrarse que en ciertos casos los aminoácidos agrupados tienen un efecto protector de la vitamina E. Se ha sugerido que esto se debe posiblemente a una contaminación de los aminoácidos con selenio. Sin embargo, Scott y C.C. Calvert (*J. Nutrition* 77, 105 (1962)) indicaron que cuando polluelos eran alimentados con una dieta deficiente en vitamina E, niveles bajos de metionina y cisteína aceleraban el apareamiento de distrofia muscular nutricional. Niveles adecuados de L-cisteína prevenían la distrofia muscular.

Una revisión sobre la bioquímica de la vitamina E fue publicada por F.D. Vasington, S.M. Reichert y A. Nason (*Vitamins and Hormones* 18, 43 (1960)) y una excelente serie de artículos de revisión sobre la vitamina E aparecieron en *Vitamins and Hormones* 20 (1962)).

En vista de que la deficiencia de vitamina E da origen a distrofia muscular nutricional en muchas especies animales, ha habido investigaciones intensas sobre el efecto del alfa-tocoferol en sistemas enzimáticos de oxidación. Hace ya varios años J. Bouman y E.C. Slater (*Nature* 177, 1181 (1956); *Biochim. Biophys Acta* 26, 624 (1957)) informaron de la presencia de alfa-tocoferol en sistemas enzimáticos activos respiratorios en preparaciones de músculo cardíaco. Vasington y Nason (*Vitamins and Hormones*, *loc. cit.*) detectaron tocoferol en la reductasa del NADH-citocromo C del corazón bovino.

De estos trabajos se concluyó que el tocoferol puede jugar un papel en reacciones biológicas de oxidación y reducción. Efectivamente, Nason y I.R. Lehman (*J. Biol. Chem.* 222, 511 (1956))

encontraron un aumento de 2 a 6 veces en la oxidación del NADH cuando se agregaba alfa-tocoferol a preparaciones de partículas parcialmente purificadas de músculo esquelético de rata; este aumento se debía a la restauración de la actividad de la reductasa del citocromo C.

A.L. Tappel (*ver Nutrition Reviews* 21, 23 (1963)) ha demostrado que la distrofia muscular en conejos deficientes en vitamina E bien puede deberse a un aumento en la fragilidad de los lisosomas en los tejidos afectados. El observó que la degeneración muscular era acompañada por un aumento en la liberación de una gran variedad de hidrolasas ácidas de los lisosomas. Estas enzimas hidrolíticas actúan sobre sus respectivos substratos y causan un rompimiento general de los ácidos nucleicos, proteínas, carbohidratos, mucopolisacáridos y otros constituyentes celulares. Esto da origen a distrofia muscular típica.

A. Guha y O.A. Roels *Biochim. Biophys. Acta* 111, 364 (1965); Roels, M. Trout, y Guha, *Biochem. J.* 97, 252 (1965)) han demostrado que en la deficiencia de vitamina A, dosis progresivas de alfa-tocoferol dietético aumentan la estabilidad de la membrana lisosómica del hígado de la rata. J.A. Lucy y J.T. Dingle (*Nature* 204, 156 (1964)) han demostrado igualmente que el alfa-tocoferol contrarresta la lisis de los eritrocitos de conejo inducida por vitamina A durante incubaciones *in vitro*.

Parece, por lo tanto, que la vitamina E juega un papel importante en asegurar la estabilidad e integridad de las membranas biológicas. Necesita probarse todavía si esta función está o no relacionada a sus propiedades anti-oxidantes.

CAPITULO XXI

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE BIOTINA

William F. Bridgers, M.D.

Esta revisión basada principalmente en informes publicados en la última década, tiene que limitarse a unas pocas áreas donde nuestros conocimientos han avanzado más rápidamente. Hay aún, por ejemplo, escasez de información disponible sobre la patogénesis de los varios síndromes de deficiencia de biotina. T. Terroine (*Vitamins and Hormones* 18, 1 (1960)) ha hecho una revisión de éstos, incluyendo las alteraciones en desarrollo del tracto genital y función reproductora en ratas; la parálisis progresiva de terneros jóvenes en dietas deficientes de potasio, reversible con dosis excesivas de biotina; el síndrome "andado de canguro" de la rata, malformaciones embriónicas en pollos; detención de la lactancia en ratones y ratas; desórdenes nerviosos en la rata, el cerdo, el pollo y el hombre; dermatitis en el ratón, la rata, el cerdo, el pollo y el hombre; y alopecia y pigmentación del pelo en la rata. El conocimiento de las causas, consecuencias y posibles correlaciones clínicas de estos defectos se logrará solamente si los nutricionistas son estimulados a estudiarlos a la luz de los grandes avances en el conocimiento de las funciones bioquímicas de la biotina.

Se sabe desde hace mucho tiempo que una gran parte de los requerimientos de biotina de un animal pueden ser satisfechos por biosíntesis por la flora intestinal. No es raro encontrar en estudios de balance que el contenido fecal de biotina es más alto que el de la dieta. El uso de animales libres de gérmenes ha permitido confirmar este hallazgo. Por ejemplo, una rata libre de gérmenes alimentada con una dieta deficiente en biotina pierde peso, y desarrolla alopecia y alteraciones en los ojos. Estos síntomas desaparecen después de una inyección intramuscular de 100 mcg de biotina (P.D. Luckey *et al.*, *J. Nutrition* 57, 169 (1955)).

Debe mencionarse que la sugerencia de que la biotina era sintetizada por un microorganismo se originó del trabajo de V. du Vigneaud, K. Dittmer, E. Hague y B. Long (*Science* 96, 186 (1942)). Estos investigadores mostraron que el requerimiento de ácido pimélico del *Corynebacterium diphtheriae* se satisfacía con pequeñas cantidades de biotina. Esto condujo a la conclusión de que la biotina era probablemente sintetizada a partir de cisteína, fosfato de carbamilo y pimelil-coenzima A. El espacio disponible no permite una discusión del mecanismo y control de síntesis de la biotina en microorganismos. El lector interesado puede consultar la revisión por T.W. Goodwin (*Biosynthesis of Vitamins and Related Compounds*, p. 145. Academic Press, New York, 1963) y otros trabajos A.H. Rose, M. Ilahi, y M.V. Kelemen, *Biochim. J.* 96, 319 (1965); H.C. Pai y H.C. Lichstein, *Biochim. Biophys. Acta* 100, 28, 36, 43 (1965));

El desarrollo de técnicas para el cultivo de células de mamíferos *in vitro* constituye actualmente un valioso instrumento para el estudio de requerimientos de vitaminas bajo condiciones más precisas que cuando se trabaja con el animal intacto. En un estudio extenso de los requerimientos nutricionales de ciertas líneas de células de mamíferos en cultivo de tejido, K.K. Sanford,

L.T. Dupree y A.B. Covalsky (Exp. Cell Res., 31, 345 (1963)) han demostrado que la biotina es necesaria para la supervivencia celular. Es interesante que este requerimiento no se pudo observar al menos que las vitaminas en la mezcla de nutrimentos agregada se restringieran a niacinamida, tiamina, riboflavina, pantotenato, colina, folato y piridoxal. La continuación de estos estudios será un valioso aporte al mejor conocimiento de las interrelaciones vitamínicas.

En la última serie de "Present Knowledge" (ref. bound volume of 1956) se mencionaba brevemente que la biotina podría jugar algún papel esencial como coenzima en la fijación de CO_2 . La elucidación de este papel de la biotina durante los últimos diez años ha sido uno de los avances más significativos en el campo de la nutrición. Numerosos investigadores han hecho contribuciones al respecto, y por consiguiente, este resumen citará principalmente artículos de revisión sobre varios aspectos del problema.

El trabajo de S. Wakil y sus colaboradores y de P.R. Vagelos y su grupo sobre la biosíntesis de ácidos grasos saturados ha sido resumido por Vagelos (Ann. Rev. Biochem. 33, 139 (1964)). Wakil descubrió que la malonil-coenzima A es un intermediario en la síntesis *de novo* de ácidos grasos de cadena larga a partir de acetil-coenzima A. La enzima que cataliza la formación de malonil-coenzima A a partir de acetil-coenzima A, CO_2 y adenosina trifosfato (ATP), es la carboxilasa de acetil-coenzima A. Esta contiene biotina, y en efecto fue la primera enzima que se demostró que contenía esta vitamina como grupo prostético (Wakil y D.M. Gibson, Biochim. Biophys. Acta. 41, 122 (1960)). La mayor parte de los investigadores están de acuerdo en que esta reacción es muy probablemente el paso limitante en la velocidad de biosíntesis de ácidos grasos.

La biotina, por consiguiente, no está solamente implicada en la reacción biosintética inicial que conduce a la síntesis de ácidos grasos saturados, sino que debe también jugar un papel en el control del mecanismo de regulación de la velocidad de esta síntesis, ya que en general, la regulación de una serie de reacciones metabólicas depende de la reacción limitante. El control de la estimulación de la carboxilación de acetil-coenzima A por intermediarios del ciclo de Krebs es de importancia. El citrato tiene el mayor efecto (Nutrition Reviews 22, 268 (1964)) entre otros intermediarios; el fumarato, por ejemplo, muestra el efecto menor. El hecho de que la avidina inhibe totalmente la activación de la carboxilasa por el citrato demuestra que la biotina está implicada en esta regulación.

Trabajos adicionales han mostrado que la activación por citrato está asociada con un cambio en las características físicas de la enzima propiamente dicha, y que este cambio de conformación resulta de alguna manera, en la estimulación de la reacción parcial en la cual CO_2 es transferido del complejo CO_2 -biotina-enzima a acetil-coenzima A. Es posible que la biotina esté implicada en otros aspectos de la regulación de la síntesis de ácidos grasos pero éstos no están aún completamente dilucidados.

Todas las enzimas que funcionan con biotina (carboxilasa de acetil-coenzima A, carboxilasa de beta-metilcrotonil-coenzima A, carboxilasa de propionil-coenzima A, transcarboxilasa de ácido metilmalonil oxalacético y carboxilasa de piruvato) son transcarboxilasas, y todas están relacionadas con un acil-coenzima A. Sin embargo, a la biotina también se le ha asignado en años recientes un papel en desaminaciones, carbamilaciones, metabolismo del triptofano (Nutrition Reviews 14, 119 (1956)) síntesis de purinas (Nutrition Reviews 15, 153 (1957)), síntesis proteica, fosforilación oxidativa, y metabolismo de carbohidratos. El papel de la biotina en la mayoría de estas reacciones es oscuro, pero todas tienen en común la característica de no ser inhibidas por la avidina *in vitro*. Es probable por consiguiente, que muchos de estos efectos sean indirectos y no dependan directamente de enzimas que contienen biotina. El lector encontrará una discusión

de estas otras funciones metabólicas de la biotina en las revisiones de F.T. Mistry y K. Dakshinamurti (*Vitamins and Hormones*, 22, 1 (1964)) y de Terroine (*Ibid.* 18, 1 (1960)).

En relación a síntesis proteica la información sugiere un defecto en la formación de amino acilo-RNA-de-transferencia. Una preparación de RNA-de-transferencia hecha con hígado de rata normal incorpora más ^{14}C -leucina que una preparada de hígado de rata deficiente en biotina (Dakshinamurti y Mistry, *J. Biol. Chem.* 238, 297 (1963)). Es bastante sorprendente que aparentemente el RNA-de-transferencia es defectuoso y no las enzimas activadoras. Otros estudios con levadura muestran que, en deficiencia de biotina, hay una acumulación de precursores de purina (F. Ahmad, A.H. Rose, y N.K. Garg, *J. Gen. Microbiol.* 24, 69 (1961)). A la fecha la mejor sugerencia parece ser que hay una acumulación anormal de RNA en los tejidos deficientes de biotina, y que este RNA es probablemente RNA-de-transferencia. Otros experimentos (Dakshinamurti y Mistry, *loc. cit.*) indican que el RNA-de-transferencia preparado de hígado de ratas deficientes en biotina a las cuales se les ha administrado succinato en la dieta, incorporan ^{14}C -leucina tan bien como RNA-de-transferencia de animales normales.

Esto sugiere que los efectos observados en incorporación de aminoácidos pueden ser debidos en parte a una disminución en la fijación de CO_2 y por consiguiente una reducción en la síntesis de ácidos dicarboxílicos. La síntesis de ácidos dicarboxílicos requiere predominantemente carboxilasa de propionil-coenzima A y carboxilasa de piruvato, ambas enzimas dependientes de biotina. La deficiencia de ácidos dicarboxílicos resultaría entonces en una reducción en la oxidación de piruvato y en respiración celular. Es necesaria más investigación para dilucidar la importancia relativa de estas dos posibilidades en deficiencia de biotina: una producción de RNA-de-transferencia anormal, o la carencia de una adecuada provisión de energía para síntesis proteica.

La biotina podría también jugar un papel específico en el metabolismo de la glucosa aparte de la fijación de CO_2 . Por ejemplo, ratas deficientes en biotina presentan una alteración en la utilización de glucosa. Mistry, Dakshinamurti y V. Modi (*Arch. Biochem. Biophys.* 96, 674 (1962)) confirmaron trabajos anteriores de otros investigadores mostrando que al sustituir la glucosa de la dieta por sorbitol o por fructosa la condición de las ratas deficientes en biotina mejoró o se retardó la aparición de síntomas de deficiencia. Hay información que sugiere que el bloqueo en la utilización de glucosa es debido a una formación inadecuada de glucosa-6-fosfato, pero la naturaleza exacta de este defecto en el metabolismo de los carbohidratos de animales deficientes en biotina aún permanece obscuro.

En recientes trabajos que continúan estos experimentos (H.N. Bhagavan, D.B. Coursin y Dakshinamurti, *Arch. Biochem. Biophys.* 110, 422 (1965)) se ha informado que la incorporación de ^{14}C -glucosa a glucógeno hepático se redujo más del 90% de lo normal en la rata deficiente en biotina. Los investigadores atribuyen esto a una disminución en la actividad de la carboxilasa del piruvato, enzima que requiere biotina y es importante en gluconeogénesis, y en la reducción de la carboxiquinasa del fosfoenol-piruvato cuya actividad también se encuentra disminuída en deficiencia de biotina.

Un área de investigación que ha recibido más y más atención en los últimos años ha sido la interrelación entre biotina, ácido fólico y vitamina B_{12} . Estudios de Luckey *et al.* (*J. Nutrition* 57, 169 (1955)) mostraron que la administración de biotina a ratas que estaban consumiendo una dieta libre de biotina y folato resultó en un aumento en la excreción de folato. Es probable que, en algunos de los experimentos de este tipo se esté en realidad mostrando que la biotina administrada fue utilizada por la flora intestinal la cual aumentó así su capacidad de sintetizar folato. Esta explicación parece, sin embargo, no ser enteramente correcta, ya que en algunos estudios presumiblemente se usaron animales libres de gérmenes.

Más recientemente un grupo de investigadores dirigidos por M. Marchetti publicó una serie de artículos sobre estas interrelaciones. Marchetti y S. Testoni (*J. Nutrition* 84, 649 (1964)) midieron los efectos de la administración de vitamina B₁₂ a ratas que habían estado en una dieta deficiente en biotina por 60 días. Estas ratas deficientes mostraban pérdida de el pelo, retardo en crecimiento y "ojos manchados". Todos estos síntomas fueron prevenidos cuando las dietas fueron suplementadas con vitamina B₁₂ al nivel de 100 mcg por kilogramo por día. La biotina hepática en estas ratas deficientes en biotina tratadas con vitamina B₁₂ fue más alta que en las que no recibieron este suplemento.

Simultáneamente se encontró (P. Puddu y Marchetti, *J. Nutrition* 84, 255 (1964); *Biochem. J.* 96, 24 (1965)) que el hígado de ratas deficientes en biotina tenía un contenido significativamente mayor de vitamina B₁₂ que el de ratas cuyas dietas fueron suplementadas con biotina. La captación de B₁₂ oral por los principales órganos de los animales deficientes fue alta, mientras que la absorción intestinal y la excreción no fueron alteradas. Estas observaciones parecen contradictorias ya que los animales en dietas deficientes en biotina se beneficiaron al recibir vitamina B₁₂, a pesar de que ya presentaban niveles de B₁₂ por arriba de lo normal en los órganos. Esto sugiere que un defecto importante en la deficiencia de biotina es una interferencia con la utilización de B₁₂; o en cierto sentido la rata deficiente en biotina muestra una deficiencia de vitamina B₁₂ acondicionada.

En otros estudios con ratas deficientes en biotina, Marchetti, P. Pasquali y L. Landi (*Biochem. J.* 94, 763 (1965)) midieron folato y derivados de coenzimas de folato en el hígado después de suplementación dietética con biotina o B₁₂. De nuevo, los niveles totales de sustancias con actividad de folato en el hígado se elevaron después de tratamiento con biotina o B₁₂. Aún más, la cantidad de factor citrovorum formada a partir de folato por homogenizados de hígado de animales deficientes en biotina tratados con biotina o B₁₂ fue más alta que en el caso de ratas deficientes en biotina no suplementadas.

En base a esto los autores sugieren la hipótesis unitaria de que no sólo la vitamina B₁₂ y el folato, sino también la biotina, participan en el metabolismo de fragmentos de un carbono. La información es provocativa y complicada y probablemente no se preste a una explicación tan simple como la sugerida. Sin embargo, los resultados señalan los méritos de investigaciones sobre vitaminas y sus interdependencias, una área fértil para nutricionistas que aceptan el reto a encararse con interacciones complejas.

CAPITULO XXII

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE LA VITAMINA K

Robert E. Olson, M.D.

La función molecular de la vitamina K continúa siendo un enigma a pesar de las investigaciones exhaustivas sobre su modo de acción desde su descubrimiento por H. Dam (*Nature* 135, 652 (1935)). Aunque existe cierta evidencia obtenida en estudios con microorganismos de que la vitamina K participa en la fosforilación oxidativa y en el transporte de electrones, la evidencia de esta acción en animales superiores es esencialmente negativa. No se ha tenido éxito en los intentos de explicar la actividad antihemorrágica de la vitamina K en mamíferos en base a un defecto en el transporte de electrones o fosforilación oxidativa. C. Martius y D. Nitz-Litzow (*Biochim. Biophys. Acta* 13, 152 (1954)) sugirieron que el defecto en la formación de protrombina en pollos deficientes de vitamina K podría explicarse como un fallo primario de la fosforilación oxidativa, el cual fue observado por ellos en mitocondrias aisladas de pollos deficientes. Ellos razonaron que la síntesis proteica podría reducirse como resultado del defecto en la conservación de energía, siendo las proteínas lábiles más afectadas que las proteínas de larga vida media.

Desafortunadamente, la observación básica de una desintegración en fosforilación oxidativa en mitocondrias de hígado de ratas y pollos deficientes de vitamina K o tratados con dicumarol, no ha sido confirmada (R.E. Beyer y E.D. Kennison, *Arch. Biochem. Biophys.* 84, 63 (1959); A.M. Paolucci, P.B.R. Rao y B.C. Johnson, *J. Nutrition* 81, 17 (1963)). Tampoco se ha encontrado una reducción en la concentración de ATP o una mala distribución de los nucleótidos de la adenina en hígados de animales deficientes (W.D. Wosilait, *Biochem. Pharmacol.* 15, 204 (1966)). Los esfuerzos por demostrar la presencia de vitamina K en la molécula de protrombina, han sido también hasta la fecha, infructuosos.

El gran avance en la comprensión de la biología molecular de la síntesis proteica alcanzado en las últimas dos décadas (F.H.C. Crick, en *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 31, 3 (1966)), ha permitido una reevaluación de los sistemas en los cuales existe acción de controles específicos sobre la síntesis proteica. La relación de la vitamina K con la síntesis de la protrombina y de otras tres proteínas que juegan un papel en el sistema de la coagulación sanguínea es un excelente modelo para estudio. En 1961, F. Jacob y J. Monod (*J. Molec. Biol.* 3, 318 (1961)) propusieron una hipótesis para explicar la regulación de la síntesis proteica en bacterias la cual postulaba la existencia de genes responsables de la regulación de la síntesis de proteínas.

Se postuló que estas proteínas reguladoras reaccionaban alostéricamente con substratos seleccionados y con metabolitos de la célula, en tal forma que producían cambios de conformación o estructura. Estos a su vez, afectaban la interacción de la proteína con un sitio operador en el cromosoma, modificando la expresión de la información bioquímica codificada en el DNA. En este modelo el sitio de control es la transcripción de información del DNA al RNA-mensajero.

La posibilidad de que la vitamina K pueda actuar como un factor en el modelo de control de Jacob y Monod a nivel genético fue explorada por R.E. Olson en 1964 (*Science* 145, 926 (1964)).

Olson encontró que la actinomicina D, un antibiótico que bloquea la polimerasa del RNA que depende del DNA, inhibe la acción estimuladora de la vitamina K₃ sobre la aparición de protrombina en la sangre de pollos deficientes en vitamina K; la acción inhibidora dura seis horas. Posteriormente, Olson (*Canad. J. Biochem.* 43, 1565 (1965)) observó que el grado de inhibición de la acción de vitamina K depende de la anticipación con que se administra la actinomicina D previo a la vitamina K, aún cuando el bloqueo de la síntesis de RNA hepático total, medido como adenina-8-¹⁴C, es máximo a las dos horas.

Esto origina la pregunta de si la falta de respuesta a la vitamina K obtenida en estos pollos previamente tratados con actinomicina D, se debía a menor cantidad de RNA-mensajero disponible para la síntesis de protrombina debido a una descomposición del mensajero lábil pre-formado durante el período anterior al tratamiento, o a un bloqueo incompleto impuesto sobre la polimerasa del RNA por el antibiótico. En un tercer trabajo (*Adv. Enzyme Reg.* 4, 181 (1966)) Olson observó en pollos deficientes en vitamina K que la puromicina era un bloqueador más efectivo que la actinomicina D, durante la síntesis de protrombina inducida por la vitamina K. También se demostró que la quinética del antagonismo entre la vitamina K y el dicumarol en el control de la síntesis de protrombina en el pollo eran consistentes con una interacción alostérica de los dos compuestos con una proteína simple.

B.C. Johnson, R.B. Hill, R. Alden y G.S. Ranhotra (*Life Sci.* 5, 385 (1966)) describieron experimentos similares en ratas deficientes en vitamina K y tratadas con warfarina. En sus experimentos la actinomicina D reducía la cantidad de protrombina formada por estímulo de la vitamina K₁ administrada a varios intervalos durante las cinco horas después de la administración del antibiótico. Sin embargo la actinomicina D no redujo la velocidad de aparición de la proteína. La puromicina, y la cicloheximida, otro bloqueador de la translación del RNA-mensajero, fueron más efectivas en antagonizar la acción de la vitamina K₁ en estas ratas. Los investigadores concluyeron que la vitamina K funcionaba a nivel translacional y especularon que podría ser efectiva en remover las "estructuras apropiadamente dobladas" de los ribosomas.

J.W. Suttie (*Arch. Biochem. Biophys.* 118, 166 (1967)) informó que la actividad de proconvertina (Factor VII) podía ser demostrada en el fluido obtenido de la perfusión de hígado de rata tratado *in vitro* con vitamina K₁. Este efecto era anulado por la puromicina pero no por la actinomicina D. H. Prydz (*Scandinav. J. Clin. Lab. Invest.* 17, 143 (1965)) hizo observaciones similares sobre el efecto de la vitamina K y de la puromicina sobre la síntesis del Factor VII en suspensiones de células de hígado. En contraste, B.M. Babior (*Biochem. Biophys. Acta* 123, 606 (1966)) encontró que la formación del Factor VII, estimulada *in vivo* por la vitamina K₁ intravenosa en ratas, continuaba aceleradamente *in vitro* en incubaciones de cortes de hígado fresco en presencia de puromicina. J.P. Olson, L.L. Miller y S.B. Troup (*J. Clin. Invest.* 45, 690 (1966)), observaron en experimentos de perfusión con hígado de rata, sólo efectos minúsculos de la puromicina sobre la la formación de la protrombina (Factor II), el Factor de Stuarts (Factor X), y el Factor VII.

Estos resultados contradictorios, apoyan sólo en parte el postulado aceptado desde hace tiempo, de que la vitamina K estimula *de novo* la síntesis de proenzimas de la coagulación, y deberían ser examinados a la luz de los elegantes estudios de inmunofluorescencia llevados a cabo por M.I. Barnhardt y G.F. Anderson (*Biochem. Pharmacol.* 9, 23 (1962)). Estos últimos estudios mostraron que perros tratados con dicumarol no presentaban evidencia de protrombina en las células hepáticas parenquimatosas, pero que la protrombina aparecía rápidamente en el retículo endoplásmico de estas células después de la administración de vitamina K₁. La aparición en el retículo endoplásmico precedía a su aparición en el plasma.

Con referencia a la forma "activa" de la vitamina K en los tejidos animales, parece probable que las múltiples formas derivadas tanto de la dieta como de la alquilación (*de novo*) del 2-metil-1,4-naftoquinona (menadiona) *in vivo*, estimulan la síntesis de protrombina en el hígado de mamíferos y aves. Martius y H.O. Esser (*Biochem. Z.* 331, 1 (1958)) demostraron que la menadiona se convierte en vitamina K₂ (20) en el pollo, hallazgo que ha sido confirmado en este laboratorio y por otros investigadores (P. Griminger y G. Brubacher, *Poultry Sci.* 45, 512 (1966)). Sin embargo, la producción es baja, siendo el mayor metabolito la menadiona reducida, en forma de glucurónido y de sulfato (R. Losito, C.A. Owen, Jr., y E.V. Flock, *Biochemistry* 6, 62, (1967)).

La alquilación de la menadiona por el geranil-geranil-pirofosfato parece ser paso limitante en la respuesta fisiológica de los animales a la forma no natural de la vitamina. Por otro lado, no parece ser válida la hipótesis propuesta por el grupo de Martius (M. Billiter, W. Bolliger y y Martius, *Biochem. Z.* 340, 290 (1964)) de que todos los homólogos dietéticos de la vitamina K son dealquilados por las bacterias intestinales, absorbidos como menadiona y realquilados *in vivo* para formar vitamina K₂ (20). J.T. Matschiner, W.V. Taggart y J.M. Amelotti (*Biochemistry* 6, 1243 (1967)) han demostrado que la forma principal de la vitamina K en el hígado bovino es un homólogo de cadena muy larga más lipofílica aún que la vitamina K₂ (50). Este "vitámero" es aparentemente formado por las bacterias del rumen, absorbido y almacenado en el hígado, donde es completamente funcional a juzgar por ensayos biológicos.

En resumen, puede decirse que la naturaleza lipofílica de las formas naturales de vitamina K es necesaria para su actividad biológica. La rapidez de acción de la menadiona parece estar relacionada con la velocidad de su conversión a formas lipofílicas por alquilación en el cuerpo del animal. También se postula que la vitamina K y las drogas anti-coagulantes del tipo cumarina, se combinan alostéricamente con una proteína reguladora y de esta manera modifican su conformación. El descubrimiento por R.A. O'Reilly *et al.* (*New Engl. J. Med.* 271, 809 (1964)) de una familia con resistencia genéticamente determinada a la acción anti-coagulante de las drogas cumarínicas, y sin embargo con un metabolismo normal de la droga, sugiere que los sitios de unión de las drogas cumarínicas con su proteína reguladora son de baja afinidad. La sensibilidad a la vitamina K era normal en estos individuos.

La evidencia actual apoya el punto de vista de que la acción de la vitamina K está mediada por una proteína reguladora en el paso translacional de la síntesis proteica, esto es, a nivel de los polisomas. El modelo propuesto por A.L. Cline y R.M. Bock (*Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology* 31, 321 (1966)), que postula la combinación alostérica de péptidos nacientes con proteínas reguladoras como una ayuda para su liberación del ribosoma, es muy atractiva para explicar el control de la síntesis de proenzimas de coagulación por la vitamina K. La similitud en las propiedades físico-químicas en las cuatro proenzimas de coagulación, a saber, protrombina, componente plasmático de la tromboplastina, proconvertina, y factor de Stuarts, las cuales podrían proveer un sitio común de unión para una proteína reguladora, es una evidencia sugestiva adicional para la validez de este modelo.

CAPITULO XXIII

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE LA NIACINA

Olaf Mickelsen, Ph. D.

Antes de 1955, los estudios sobre niacina dieron énfasis primario a su papel como nutriente. Después de esa fecha la atención hacia esta vitamina cambió, hasta cierto grado, hacia el campo farmacológico. Este cambio ocurrió, cuando se notó que la ingestión de 4.0 gm de niacina en humanos producía una reducción del 11 por ciento en los niveles de colesterol sérico. Esta reducción era proporcional a los valores iniciales del colesterol sérico; pacientes con niveles mayores de 250 mg. por 100 ml., mostraban una reducción de 22 por ciento en estos niveles, cuando se les administraba una dosis de 1.0 gm de niacina (para revisión, *ver Niacin in Vascular Disorders and Hyperlipemia*, R. Altschul, Editor. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, 1964).

La terapia con niacina, parece ser efectiva por varios años (N.A. Christensen, R.W.P. Achor, K.G. Berge, y H.L. Mason, *Dis. Chest.* 46, 411 (1964); M.L. Stern, *Current Therap. Res.* 7195, (1965)), y en un 80 por ciento de los pacientes. La cantidad de niacina necesaria para reducir los niveles de colesterol sanguíneo, es mucho mayor que los requerimientos nutricionales diarios de esta vitamina.

Grandes dosis de niacina, no solamente reducen el colesterol libre y esterificado de la sangre sino también, las beta-lipoproteínas y los triglicéridos (O.N. Miller, J.G. Hamilton y G.A. Goldsmith, *Am. J. Clin. Nutrition* 8, 480 (1960); J.R. Shawver, J.S. Scarborough y S.M. Tarnowski, *Am. J. Psychiat.* 117, 741 (1961)). Estos últimos se reducen tanto como el colesterol.

Grandes dosis de niacina pueden influenciar el metabolismo de los lípidos, inhibiendo la movilización de los ácidos grasos libres (A.G.L.) del tejido adiposo. La niacina inhibe la liberación de ácidos grasos libres de sujetos en descanso o durante ejercicio (L.H. Carlson y L. Oro, *J. Atherosclerosis Res.* 5, 436 (1965)).

A las grandes dosis de niacina* necesarias para reducir el colesterol sanguíneo se han asociado numerosas reacciones secundarias. Una de las primeras en manifestarse y la más pronunciada, es el enrojecimiento de la piel, con picazón y sensación de calor. Después de algunos días a una semana, este fenómeno puede desaparecer completamente o volverse tolerable (*ver Niacin in Vascular Disorders and Hyperlipemia*, pag. 50). Al suspender la terapia con niacina durante tres días y reanudarla, las reacciones de enrojecimiento de la piel se repiten.

Nota del Traductor*: Es aparente que el autor del artículo original usa el término niacina para referirse específicamente al ácido nicotínico y niacinamida a la amida del ácido nicotínico.

Otras molestias incluyen, irritación gastrointestinal, con pérdida de apetito, náusea, vómitos y diarrea. Estas molestias, se acentúan después de tres años de terapia con niacina. El daño hepático, derivado de la terapia con niacina, produce alteraciones en las siguientes pruebas, enumeradas en orden de mayor a menor frecuencia: floculación de cefalina-colesterol, transaminasa sérica glutámico-oxaloacética, retención de sulfabromotaleina y aumento en la fosfatasa alcalina sérica (Christensen, *loc. cit.*).

Ninguna de estas pruebas, indican daño severo del hígado y en la mayoría de los casos, la anormalidad desaparece poco después de suspender la terapia con niacina. El significado de estas alteraciones hepáticas moderadas, está abierto a especulación, puesto que no ha habido aún "ningún patrón consistente de patología, en biopsias hepáticas de pacientes con funciones anormales" (W.B. Parsons, en *Niacin Vascular Disorders and Hyperlipemia*, p. 263). Los niveles sanguíneos de azúcar, en ayunas mostraron respuestas muy variables a la ingesta de altas dosis de niacina.

Un investigador (W.B. Parson, Jr., *J. Am. Med Assn.* 173, 1466 (1960)) informó que siete pacientes que recibían terapia con niacina, mostraron "evidencia de activación de las úlceras pépticas, con hemorragia oculta en uno de los casos". Todos estos pacientes, tuvieron úlceras antes o fueron individuos "tensos y nerviosos" y por esta razón, la niacina "no fue ciertamente el único factor responsable por el desarrollo de la ulceración y en realidad, pudo haber estado jugando solamente un papel secundario". En otro estudio de larga duración no se observaron señales de úlceras pépticas "y las dos personas que previamente habían tenido úlceras duodenales, no experimentaron recrudecimiento de los síntomas durante la terapia con ácido nicotínico" (Berge *et al.*, *Am. J. Med.* 31, 24 (1961)).

Existe cierta concordancia en que la niacina administrada por vía oral es efectiva para reducir los niveles de colesterol sérico, mientras que la niacinamida no lo es. Esta situación puede ser diferente cuando estos compuestos se inyectan (R. Fontenont, H. Redetzki y R. Deupree, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 119, 1053 (1965)).

La acción de niacina sobre el nivel de colesterol plasmático en animales, ha sido estudiada en el conejo, la rata y el perro. En el conejo, grandes dosis de niacina por vía oral producen una rápida reducción de los niveles de colesterol, pero en contraste a lo que sucede en el hombre la reducción no es proporcional al nivel inicial.

No solamente parece ser que la niacina mantiene normales los niveles de colesterol sérico de los conejos alimentados con colesterol, sino que mantiene normal la composición de sus aortas (J.M. Murrill y J. Lemley-Stone, *Circulation Res.* 5, 617 (1959)), y es parcialmente efectiva en inhibir la excesiva deposición de colesterol en el hígado. Hay alguna evidencia de que la niacina es efectiva en conejos para prevenir la formación extensiva de las placas, pero que tiene poco efecto sobre las placas ya presentes antes de empezar la terapia con niacina (P. Lipton y J.G. Michels, *Geriatrics* 20, 379 (1965)).

En la rata, es muy difícil elevar los niveles de colesterol sérico arriba de 80 mg por 100 ml., a menos que el colesterol de la dieta se combine con sales biliares y un depresor de la tiroides. Aun cuando los niveles de colesterol en la rata fueron aumentados, la adición de 0.2 y 1.0 por ciento de niacina a la ración no tuvo ningún efecto (J.L. Gaylor, R.W.F. Hardy y C.A. Baumann, *J. Nutrition* 70, 293 (1960)). Los niveles de colesterol hepático no fueron influenciados por la niacina (C.H. Duncan y M.M. Best, *J. Lipid Res.* 1, 159 (1960)), o su amida (Gaylor, Hardy y Baumann, *loc. cit.*).

En cierto sentido el perro es tan resistente como la rata a la inducción de arterosclerosis experimental. Esto puede explicar parcialmente por qué el perro también parece ser inmune al efecto de la niacina sobre los niveles de colesterol.

Ha sido informado que dosis diarias de niacina de 200 mg por kilogramo de peso corporal no tienen influencia sobre los niveles de colesterol plasmático en perros (M.E. Zanetti y D.M. Tennent, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 112, 991 (1963)). La niacinamida a la misma dosis aumentó los niveles de colesterol en perros normales e hipercolesterolémicos. Una nota final de confusión fue agregada por un informe en que se describe que 50 mg de niacina dada a perros por vía oral reduce los niveles de colesterol sanguíneo (F.Coemsana, A. Nara, B.L. Fishleder y D. Sodi-Pallares, *Am. Heart J.* 55, 476 (1958)). Por lo consiguiente sólo se puede concluir que, el efecto de la niacina sobre los niveles de colesterol sanguíneo del perro no ha sido establecido.

Las aves de corral no parecen mostrar una gran respuesta a la terapia con niacina cuando son alimentadas con dietas que contienen colesterol.

Es imposible determinar si la terapia con niacina ha sido efectiva en reducir o reprimir los procesos arteroscleróticos en el humano. Parece que existe bastante evidencia de que la reducción de los niveles de colesterol sérico, después de la terapia con niacina, está asociada con una reducción en el tamaño de los xantomas que contienen lípidos. Aunque un gran número de pacientes con síntomas de enfermedades cardiovasculares han sido tratados con niacina, los protocolos terapéuticos han variado a tal grado, que es imposible llegar a alguna conclusión acerca de la eficacia de este tratamiento.

En años recientes el énfasis primario de los estudios sobre la niacina contenida en los granos, se ha concentrado en el aislamiento de la forma "ligada" de la niacina del maíz, y de otros productos de cereales. Estos estudios fueron estimulados por la observación de que había una marcada diferencia en los valores de la niacina de los cereales cuando ésta se determinaba por métodos colorimétricos, dependiendo de si previamente las muestras se hidrolizaban o no con hidróxido de sodio diluido. Ensayos microbiológicos indicaron que había cerca de un 20 por ciento más de niacina en extractos alcalinos diluidos de trigo, que en extractos acuosos o ácidos. La sustancia que con el tratamiento alcalino se convertía en un compuesto con actividad de niacina, se designó como el "precursor" de la niacina. Es muy posible, que este "precursor" sea la misma sustancia que la niacina "ligada", estudiada subsecuentemente por otros investigadores.

Trabajos posteriores indicaron que la niacina "ligada" de los cereales era inefectiva para curar las deficiencias de niacina de la rata, del pollo, del pato y del cerdo. La evidencia sobre la disponibilidad de la niacina "ligada" en el hombre no es aún tan definida como para los animales.

En vista de que la forma "ligada" de la niacina no es disponible para el crecimiento de los microorganismos, la determinación microbiológica en los alimentos, antes y después de tratamiento con hidróxido de sodio, ha sido usada como una medida de la niacina "ligada". Estos ensayos, indican que el 80 a 90 por ciento de la niacina de algunos cereales como el arroz, el trigo, el maíz y la cebada se encuentran en la forma ligada. Las legumbres y los productos animales no contienen niacina "ligada".

Los intentos de aislar la forma "ligada" de la niacina, han dado como resultado la identificación de dos grupos principales de compuestos. Uno de ellos, parece estar básicamente constituido por péptidos con pesos moleculares de 12,000 a 13,000. Estos compuestos fueron llamados

niacinógenos. Otros investigadores informaron sobre el aislamiento de un carbohidrato complejo (peso molecular de 2,370) con la niacina "ligada" y creen que el 2 por ciento de aminoácidos presentes representan una contaminación con proteína. Se propuso el nombre de niacitina para este compuesto (*Nutrition Reviews* 19, 242 (1961)).

La existencia de dos tipos diferentes de niacina "ligada", deja un sin número de preguntas sin respuesta. Aparentemente, los trabajos en este campo se han paralizado justamente cuando se estaba revelando como un problema bastante estimulante.

Desde el punto de vista práctico debería haberse hecho referencia a la forma "ligada" de la niacina cuando el "*Recommended Dietary Allowances*" fue publicado, ya que entonces se introdujo el término "equivalentes de niacina" en vez de "niacina" (*National Academy of Sciences-National Research Council publicación* 589, p. 14, Washington, D.C., 1958). Valores del contenido de niacina en los alimentos han sido presentados, olvidándose completamente de la forma "ligada" de la niacina (B.K. Watt y A.L. Merrill, *U.S. Department of Agriculture Handbook* No. 8, 1963).

La poca atención que ha recibido la niacina "ligada" puede deberse a que muchos investigadores asumen que el valor máximo para el contenido de niacina de un alimento es el correcto, presumiendo que valores más bajos indican extracción incompleta o dificultades analíticas. Además hay todavía mucho desacuerdo respecto al efecto de la preparación de los alimentos sobre la disponibilidad de la niacina "ligada". Algunos investigadores sostienen por ejemplo que hirviendo el maíz la niacina se hace disponible.

En un informe publicado en 1960 se sugirió que la pelagra podría desarrollarse en individuos que consumían grandes cantidades de mijo (*Sorghum vulgare* o "Jowar"). Con base en este estudio se sugirió que el "Jowar" producía pelagra, no por su deficiencia en triptofano o la poca disponibilidad de su ácido nicotínico, sino por su alto contenido en leucina. El trabajo original fue después retirado (*Ver Nutrition Reviews*, 21, 334 (1963)).

A pesar de haberse retractado, los investigadores ahora sostienen que un suplemento de 10 gramos de L-leucina por día, durante cinco días, disminuye a la mitad la habilidad de los glóbulos rojos para sintetizar nucleótidos de nicotinamida cuando se incuban con niacina (N. Raghuramulu, S.G. Srikanthia, B.S. Narasinga Rao, y C. Gopalan, *Biochem. J.* 96, 837 (1965)). Sin embargo, no hubo diferencias en el contenido de nucleótidos de los glóbulos rojos de 47 individuos normales y de 25 pelagrosos, antes o después de la ingestión de leucina.

La continuación de estos estudios en ratas recién destetadas (Raghuramulu, Narasinga Rao y Gopalan, *J. Nutrition* 86, 100 (1965)) sugirió que la adición de leucina a una ración que contenía 11 por ciento de caseína, aumentaba la excreción urinaria de ácido quinolínico. La excreción de ácido quinolínico fue sólo parcialmente reducida por la adición de 1 mg de niacina por 100 g de ración pero no por la adición de 100 mg de D-L triptofano. El efecto de la leucina sobre la niacina es todavía dudoso. En el estudio anterior la leucina no redujo la ganancia en peso corporal de la rata.

Parecería importante poder repetir el trabajo con mijo o "Jowar". De acuerdo con B. Belavady y Gopalan (*Lancet* 2, 1220 (1965)), el "Jowar" contiene grandes cantidades de niacina, presumiblemente disponible a los animales. Además su contenido de triptofano, a diferencia del maíz, no es bajo. A pesar del alto valor nutritivo del mijo, éste parece causar pelagra en sujetos humanos y lengua negra en perros.

El triptofano puede servir como un precursor de niacina, en la mayoría de los animales y en el hombre. La variación en la concentración de estos dos compuestos en los alimentos varía y en su disponibilidad nutricional, ocasiona muchos problemas en la evaluación del contenido de equivalentes de niacina de los alimentos. A pesar de estas dificultades, parece que se acepta, cada día más, que aproximadamente 60 mg de triptofano en la dieta equivalen a 1 mg de niacina en lo concerniente a los requerimientos de esta vitamina.

Hay relativamente poca evidencia experimental acerca de la disponibilidad del triptofano como fuente de niacina y casi toda esta evidencia ha sido derivada de estudios en ratas. Los resultados no siempre han estado de acuerdo con otras observaciones. Parte de la dificultad proviene de asumir que la excreción urinaria de compuestos relacionados con el metabolismo de la niacina puede servir como índice del grado en que el triptofano es capaz de reemplazar a la niacina. En los trabajos iniciales en este campo se hizo aparente que este postulado no es necesariamente válido.

No se ha hecho ninguna investigación a fondo sobre la eficacia del triptofano libre, comparado con el de la caseína u otras proteínas, para prevenir la deficiencia de niacina y su consiguiente relación con la excreción de metabolitos de niacina.

En el hombre, la conversión de triptofano a niacina, ha sido evaluada principalmente por la excreción de N'-metil-nicotinamida (NMN) y su piridona (cualquiera de los dos carbonos el #2 ó el #6 del anillo piridínico tiene un oxígeno adherido a él). Muchos investigadores han observado que cuando las dietas de adultos fueron suplementadas con niacina, niacinamida o triptofano, aumentó la excreción urinaria de NMN o su piridona. Sin embargo, la proporción de estos dos compuestos varió. Un grupo de investigadores informó que, en adultos, el aumento en excreción de metabolitos después de la administración de niacina se debió en un 70 a 90 por ciento a la piridona, mientras que la NMN solamente contribuyó del 10 al 30 por ciento (G.A. Goldsmith, O.N. Miller y W.G. Unglaub, *J. Nutrition* 73, 172 (1961)). Si se hubieran medido otros compuestos urinarios, los resultados podrían haber sido diferentes.

Dependiendo del criterio usado para estimar el grado de conversión pueden obtenerse diferentes resultados, como lo indica la observación de que cuando se administró triptofano en una dieta semipurificada, suficiente solamente para satisfacer los requerimiento mínimos, fueron necesarios 5 mg de niacina para mantener equilibrio nitrogenado pero se necesitaron 10 mg para lograr niveles normales de nucleótidos de piridina sanguíneos (V.M. Vivian, R.R. Brown, J.M. Price, y M.S. Reynolds, *J. Nutrition* 88, 93 (1966)).

El hecho de que en un grupo de hombres normales la excreción urinaria de NMN y piridona excedió a la cantidad de niacina ingerida sugiere que una cantidad considerable de niacina se forma del triptofano de la dieta (D.J. de Lange y C.P. Joubert, *Am. J. Clin. Nutrition* 15, 169 (1964)). Los resultados indican que cerca de las dos terceras partes de la niacina metabolizada por adultos que consumen una buena dieta, se deriva del triptofano.

La excreción de piridona y NMN puede ser afectada por el tipo de proteína de la dieta y las condiciones fisiológicas de los sujetos (embarazo e inanición aguda). Durante el tercer trimestre del embarazo, las mujeres excretan tres veces más piridona y NMN, que a los tres meses después del parto (A.E. Wertz, M.E. Lojkin, B.S. Bauchard y M.B. Derby, *J. Nutrition* 64, 339 (1958)). No hay explicación de los aparentes grandes depósitos de niacina en mujeres embarazadas. Lo opuesto sería haber sido anticipado, ya que en el tercer trimestre, el feto, crece muy rápidamente. La formación de nuevos tejidos corporales debería reducir los depósitos de niacina en la madre, en vez de aumentarlos al grado sugerido por una excreción de metabolitos de niacina tres veces mayor.

Se ha prestado muy poca atención a la excreción de metabolitos de niacina durante los períodos de inanición. En un estudio, se alimentaron mujeres jóvenes con una dieta semipurificada que contenía una variedad de niveles de niacina y triptofano; los datos obtenidos de la excreción urinaria de metabolitos fueron interpretados como indicativos de que la conversión de triptofano a niacina, no se altera durante períodos de síntesis proteica restringida (Vivian, *J. Nutrition* 82, 395 (1964)). Las condiciones dietéticas, sin embargo, eran cambiadas cada seis días y seis días puede ser muy poco tiempo para lograr un estado de equilibrio.

Los primeros trabajos sobre la excreción de niacina en inanición aguda fueron hechos antes del reconocimiento de la NMN y la piridona. En aquel tiempo, se informó que la excreción urinaria de niacina aumentaba en perros y hombres normales cuando no consumían ningún alimento.

Los experimentos con animales, han dado resultados aún más divergentes que los estudios hechos en humanos. La rata, que ha sido el animal más usado, es relativamente resistente a una deficiencia de niacina. Además, los estudios han abarcado muy diversas condiciones dietéticas, las cuales pueden ejercer gran influencia sobre la flora intestinal de estos animales, con las subsiguientes repercusiones nutricionales.

Numerosos investigadores han concluido, que en la rata, el triptofano es usado en primer lugar para lograr equilibrio nitrogenado, en segundo para crecimiento, y por último como fuente de niacina.

La equivalencia de triptofano a niacina, varía no solamente de individuo a individuo, sino también con la dieta, las condiciones individuales y el criterio usado. Hay evidencia que sugiere que la variabilidad interindividual en la formación de niacina, a partir de triptofano, aumenta a medida que se eleva el nivel de triptofano en la dieta. Esta variabilidad, fue observada no solamente en adultos (M.K. Horwitt *et al.*, *J. Nutrition* 60, Suppl. 1 (1956); Goldsmith, Miller y Unglaub, *Ibid.* 73, 172 (1961)) sino también en mujeres jóvenes (E.Z. Moyer, Goldsmith, Miller y J. Miller, *Ibid.* 79, 423 (1963)). Los resultados de todos estos estudios sugieren que, con dietas adecuadas un promedio de 60 mg de triptofano se convierten en 1 mg de niacina. Cuando las dietas contienen grandes cantidades de gelatina es necesario más triptofano, lo cual se atribuyó al imbalance de aminoácidos.

La cantidad de triptofano necesaria para sintetizar 1 mg de niacina parece ser menor en mujeres embarazadas. La excreción aumentada de metabolitos de niacina durante el tercer trimestre del embarazo indica que solamente 18 mg de triptofano son necesarios (Wertz *et al.*, *loc. cit.*). Aún tres meses después del parto continúa una excreción aumentada de metabolitos de niacina que sugiere que solamente son necesarios aproximadamente 31 mg de triptofano para producir 1 mg de niacina.

Cuando se usó como criterio de equivalencia el aumento de los nucleótidos de piridina en la sangre, una sola dosis de 5 gm de triptofano produjo los mismos cambios que 1 gm de niacina (M. Duncan y H.P. Sarett, *J. Biol. Chem.* 193, 317 (1951)). Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos al medir el aumento de los nucleótidos de piridina en el hígado de ratas después de grandes ingestas de triptofano o de niacina (M.A. Morrison, M.S. Reynolds, y A.E. Harper, *J. Nutrition* 80, 441 (1963)).

CAPITULO XXIV

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE EL ACIDO PANTOTENICO

William B. Bean, M.D.

En la última década el estudio del ácido pantoténico ha avanzado muy lentamente. Las investigaciones sobre ácido pantoténico no han mostrado gran actividad. Por ejemplo en 1964-1965 ni siquiera aparece en el índice de *Nutrition Reviews*. El término ácido pantoténico viene de la palabra griega que significa "de todas partes". La vitamina se encuentra presente en casi cualquier dieta natural. La deficiencia dietética espontánea es muy poco probable, ya que en una dieta deficiente en este factor las deficiencias de otras vitaminas se manifestarían primero. Los estudios extensos, arduos y caros que es necesario llevar a cabo en el hombre son muy difíciles de desarrollar y por consiguiente el progreso en esta área ha sido muy limitado.

La historia del descubrimiento del ácido pantoténico revela que éste fue consecuencia de años de investigación sobre el efecto "bios" de la levadura, el factor antipelagra del pollo, el factor antidermatítico para pollos y un factor de crecimiento para bacterias productoras del ácido láctico. Finalmente, todos estos factores resultaron ser la misma cosa. R.J. William y sus colaboradores continuaron el trabajo fundamental durante los años críticos de su aislamiento, identificación, y como paso final, su síntesis. El ácido pantoténico es una molécula formada de beta-alanina y de hidroxidimetil-butirolactona.

Por un período de casi quince años nosotros hemos estado experimentando con voluntarios, con el objeto de producir una deficiencia aislada atribuible al ácido pantoténico, sin ninguna complicación con otras deficiencias de factores dietéticos esenciales o de deficiencias combinadas. Hemos empleado para esto dietas purificadas parcialmente sintéticas con o sin antagonistas del ácido pantoténico, tales como el ácido omega-metil-pantoténico. No se puede utilizar para este propósito ninguna dieta natural debido a la amplia presencia del ácido pantoténico en una gran variedad de alimentos. Además, algunas pruebas han indicado que en muchos alimentos el contenido de ácido pantoténico es más alto que el listado en las tablas de composición de alimentos.

En 1962, nosotros informamos sobre estudios en seis voluntarios en los cuales se investigó si la respuesta inmunológica difería en sujetos deficientes en ácido pantoténico de la de aquéllos con una dieta adecuada (*Am. J. Clin. Nutrition* 10, 500, 506 (1962); *Ibid.* 11, 85, 180, 187 (1962)). Los sujetos del grupo control permanecieron en buen estado de salud durante las 13 semanas del estudio. Aquellos que consumieron únicamente la dieta deficiente tuvieron algún malestar y vómitos durante la tercera y cuarta semana. Uno de ellos mantuvo malestar abdominal y calambres, pero exámenes repetidos no pudieron mostrar ningún signo objetivo. Más tarde los individuos mostraron sensibilidad en los tendones, fatiga e insomnio.

Los dos hombres que recibieron la dieta deficiente con ácido omega-metil-pantoténico tuvieron síntomas similares los cuales, sin embargo, aparecieron más pronto: dolor y sensibilidad en el abdomen, náusea frecuente, regurgitación ocasional de la dieta, algunos cambios en la persona-

lidad tal vez relacionados con insomnio, debilidad y calambres en las piernas, y parestesias en las manos y los pies. Los reflejos de los tendones permanecieron normales. Hubo ataques de diarrea intermitentes pero no severos. Se notó alteración en la respuesta eosinopénica a la administración de ACTH y una elevada velocidad de sedimentación.

El nitrógeno sérico total permaneció normal. Hubo una ligera disminución en la concentración de *gama-globulina* en los sujetos que recibieron la dieta deficiente con o sin el antagonista. La inmunización con los antígenos de tifoidea, influenza asiática y tétano indujo las siguientes reacciones. No hubo diferencia en la respuesta al antígeno tifoideo. Los individuos deficientes en ácido pantoténico produjeron menos anticuerpos contra tétano que los sujetos controles o deficientes que recibieron la antivitamina. Los resultados con el antígeno de la gripe asiática no fueron conclusivos.

Injertos heterólogos de piel fueron mal aceptados por los sujetos deficientes y no proliferaron bien. Estos fueron rechazados al menos tan rápidamente como en los sujetos controles. No puede decirse con certeza si el proceso fue acelerado por la presencia de infección secundaria o si tuvo alguna relación con la deficiente reparación de la herida. Es posible que el ácido omega-metil-pantoténico haya actuado como una vitamina en la producción de anticuerpos contra el tétano.

Un estudio comparativo con piridoxina indicó que, aun cuando la administración de una dieta deficiente con deoxipiridoxina resultó en trastornos clínicos, hubo solamente una ligera disminución en la formación de anticuerpos contra el tétano y la tifoidea en los sujetos deficientes.

Un estudio posterior, sin embargo, con deficiencia combinada de piridoxina y ácido pantoténico tuvo los siguientes resultados. Cuando únicamente se administró la dieta deficiente no hubo alteración en la producción de anticuerpos en siete semanas. Cinco sujetos a los que se administró una dieta deficiente en ácido pantoténico y en piridoxina con ácido omega-metil-pantoténico y deoxipiridoxina mostraron signos de enfermedad. Estos individuos fueron incapaces de responder al antígeno "O" tetánico y tifoide, y tuvieron una respuesta insignificante al antígeno tifoide "H". Después de la restauración de las vitaminas a la dieta, la respuesta en la formación de anticuerpos regresó a la normalidad. En contraste, estos mismos cinco hombres deficientes tuvieron respuesta excelente a la inmunización con antígenos de poliomielitis. Las fracciones proteicas del suero mostraron una disminución significativa en la cantidad de *gama-globulina* en forma paralela al título de anticuerpos tifoides "O".

Otros estudios indican que en animales libres de gérmenes, todo el ácido pantoténico administrado u originalmente presente puede ser cuantitativamente localizado en la excreta y en el cadáver eviscerado (carcass). Es aparente, por lo tanto, que en animales libres de gérmenes el ácido pantoténico no es metabolizado o hidrolizado en cantidades significativas (*Nutrition Reviews* 14, 116 (1956)).

Ratas jóvenes privadas de ácido pantoténico pierden gradualmente la resistencia natural de la especie al *cornibacterium* 197 (*Nutrition Reviews*, loc. cit.). Hay sin embargo, considerable variación entre diferentes razas de animales y diferentes especies (*Ibid.* 14, 192 (1956)).

A.E. Axelrod y colaboradores han demostrado convincentemente que la deficiencia de ácido pantoténico perjudica a la producción de anticuerpos hemaglutinantes y de anticuerpos para el toxoide diftérico, pero que no causan ninguna reducción en los niveles de complemento. No se sabe si el efecto es producido por cambios en el metabolismo del antígeno, por daño a las células

que sintetizan el antígeno, por inhibición de sistemas enzimáticos esenciales, por aumento en la destrucción o eliminación de anticuerpos, o por algún otro mecanismo (ver *Nutrition Reviews* 14, 150 (1956)).

W.J. Griffiths y sus asociados han demostrado que ratas a las que se hizo correr en una "faja sin fin" en días alternos, seleccionaban cantidades mayores de pantotenato de calcio durante los períodos de ejercicio. De estos experimentos, sin embargo, no puede deducirse si la razón era que el ácido pantoténico cambiaba el sabor del agua o si había una respuesta a una demanda fisiológica aumentada de ácido pantoténico (ver *Nutrition Reviews* 15, 58 (1957)).

Parece ser que el ácido pantoténico es también un suplemento necesario para la alimentación de cerdos con raciones a base de soya como la fuente principal de proteína; sin embargo, es necesaria más evidencia al respecto (*Nutrition Reviews* 15, 275 (1957)).

El énfasis en bioquímica se ha ido moviendo de estudios en animales a partes de animales, de órganos a células, de células a fracciones sub-celulares y de éstas a sistemas enzimáticos altamente purificados. No debe negarse que la información obtenida a través del estudio de estos sistemas es fundamental en la investigación y es muy útil para nuestra comprensión de muchos problemas nutricionales. Sin embargo, nuevas ideas deben ser proporcionadas a partir de observaciones hechas en el hombre o en los animales intactos. Hay necesidad de continuar con este tipo de estudios.

El trabajo de T.F. Zuker y sus colaboradores sobre la inducción de úlceras duodenales severas en ciertas variedades de ratas experimentales haciéndolas deficientes en ácido pantoténico, es una buena ilustración del tipo de información sugestiva que puede originarse a partir de estudios cuidadosamente conducidos. La significación de estos hallazgos con relación a úlcera péptica humana está sujeta a especulación. Existe una gran variación en la susceptibilidad de diferentes variedades de ratas. La síntesis de acetilcolina no parece haber sido afectada en los estudios mencionados.

El peso del timo disminuyó rápidamente durante la deficiencia de ácido pantoténico. La adrenalectomía previno este efecto sobre el timo. Estudios posteriores indicaron que el timo mismo era más susceptible a las hormonas de la corteza suprarrenal cuando éstas no eran producidas en exceso. El desarrollo de úlcera duodenal se asoció con un aumento en la secreción de ácido clorhídrico, el cual ocurría únicamente en animales adultos y no en animales jóvenes o durante el crecimiento (*Nutrition Reviews* 17, 27 (1959)).

La administración del ácido omega-metil-pantoténico a ratas interfiere con la producción de corticosterona por las glándulas suprarrenales (*Nutrition Reviews* 18, 273 (1960)). Las ratas deficientes excretaron alrededor de la mitad de esta hormona. Este efecto fue corregido por la inyección de la vitamina activa 24 horas antes de la prueba. Los animales deficientes respondían al ACTH.

La insulinas hepática se encuentra disminuida en ratas deficientes en ácido pantoténico. Un efecto similar es producido por la deficiencia de proteína o riboflavina, pero no por la deficiencia de tiamina (*Nutrition Reviews* 18, 93 (1960)).

A pesar de los muchos estudios, no se conoce aún como el ácido ascórbico previene el desarrollo de los síntomas de deficiencia de ácido pantoténico en ratas en crecimiento. Se piensa que esto se deba a un efecto sobre la microflora del intestino pero la evidencia todavía no es suficiente. La anemia que se presenta a veces en los animales deficientes en ácido pantoténico puede en parte ser explicada por el hallazgo de que la síntesis del ácido amino-levulínico requiere tanto

ácido pantoténico como piridoxina. Por consiguiente este precursor del hemo es específicamente influenciado por el suministro adecuado o la deficiencia de ácido pantoténico.

En patitos deficientes en ácido pantoténico hay una disminución severa de la capacidad de incorporación de glicina y succinato en el hemo. Este efecto puede ser notado en menos de 3 días después de la administración de la dieta deficiente, no se observó incorporación de ácido amino-levulínico sino hasta el sexto día. La adición de coenzima A a los medios de incubación no tuvo ningún efecto pero el pantotenato de calcio inyectado a los animales deficientes una hora antes de la toma de sangre resultó en la incorporación de glicina al hemo a la velocidad usual (*Nutrition Reviews* 16, 142 (1958)).

Estudios detallados sobre los requerimientos alimenticios del salmón "Chinook" han indicado que el ácido pantoténico es esencial para su crecimiento adecuado, así como para su desarrollo y bienestar; que su deficiencia resulta en agallas defectuosas, exudados en las agallas, postración, pérdida de apetito y reducida actividad. No hubo descripción clara en este trabajo de cómo se pudo demostrar postración en salmones pequeños en crecimiento, pero indudablemente los animales parecían estar cansados (*Nutrition Reviews* 16, 106 (1958)).

La deficiencia de piridoxina o de ácido pantoténico impiden en la rata una formación normal de anticuerpos bajo el estímulo de la vacuna contra la influenza. La tiamina no tiene ningún efecto en este sentido (*Nutrition Reviews* 19, 116 (1961)). En cobayos el ácido omega-metil-pantoténico ha sido muy efectivo en la producción de deficiencia de ácido pantoténico, la cual se caracteriza por una reducción bastante grande en ácido ascórbico sérico (*Ibid.* 19, 156 (1961)). En ratas sanas el ácido pantoténico se encuentra distribuido libremente en la corteza suprarrenal. Después del estímulo con ACTH la concentración de coenzima A aumenta selectivamente en la zona fasciculata a expensas del ácido pantoténico libre (*Ibid.* 19, 79 (1961)). El ácido pantoténico es inestable al calor y por consiguiente pueden haber pérdidas que oscilan entre el 15 y 30% en carnes enlatadas, secadas al calor o cocidas (*Ibid.* 20, 257 (1962)).

Aunque se ha mencionado que el ácido pantoténico tiene un efecto beneficioso sobre el ileo paralítico y sobre otras alteraciones menos severas de la función del tracto digestivo, particularmente después de operaciones quirúrgicas, no se ha encontrado aún evidencia al respecto. Los trabajos que sugieren que sí tuvo algún efecto, son notorios por la poca calidad de los controles utilizados.

La alimentación de ratas embarazadas con una dieta deficiente en ácido pantoténico resulta en una variedad de defectos congénitos en los recién nacidos. Los defectos específicos dependen de la época del embarazo en la cual la dieta se administra, así como de la duración de la deficiencia. Se ha observado un gran aumento en la concentración de coenzima A y pantotenato en fetos de cobayos inmediatamente antes del nacimiento, sugiriendo que en este momento fisiológico puede haber una necesidad crítica de estos compuestos. En cobayos bajo el efecto de una dieta deficiente, el tiempo de sobrevivencia de las hembras fue únicamente la mitad, si éstas estaban embarazadas, del observado en hembras no embarazadas o en machos mantenidos en la misma dieta deficiente.

En casi todos los animales se observaron hemorragias en las glándulas suprarrenales. En alrededor del 25% se notaron hemorragias gastrointestinales. La concentración de coenzima A y ácido pantoténico en el hígado bajó a 50% del valor normal. Cuando la dieta deficiente fue administrada durante la sexta o séptima semana de gestación no hubo ningún efecto dañino, pero la administración de la dieta durante la novena semana dio como resultado abortos, muerte fetal y la

muerte de una de las madres. Cuando se dió la dieta deficiente durante la décima semana los efectos fueron mucho menos severos o críticos. El cobayo tiene un requerimiento del ácido pantoténico más alto que la rata en la cual la deficiencia por un período de un mes durante la gestación no resulta en ningún defecto serio (*Nutrition Reviews* 24, 169 (1966)).

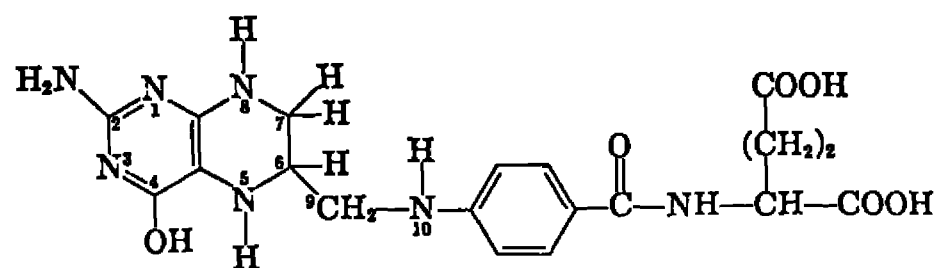
En conclusión, la última década no ha sido un período de investigaciones extensas y profundas sobre el ácido pantoténico. Los resultados obtenidos son significativos aunque no numerosos y es necesario mucho más estudio sobre este tema.

CAPITULO XXV

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE EL FOLACIN

Joseph J. Vitale, Ph.D.

El folacín (ácido fólico, folatos o ácido pteroilglutámico (APG)) es un producto sintético y generalmente no se encuentra en la naturaleza, sino en forma conjugada con dos a tres moléculas de ácido glutámico que están ligadas en las posiciones del carbono-gama. La forma fisiológicamente activa es un producto de reducción (Figura 1) 5, 6, 7, 8-ácido tetrahidrofólico (ATF) ligado en las posiciones 5_N , 10_N , ó - 10_N con grupos formilo, hidroximetilo, metilo o formimino.



Acido 5, 6, 7, 8 Tetrahidrofólico

Figura 1

Las formas naturales encontradas en los alimentos son los pteroilpoliglutamatos que son modificados probablemente durante la absorción para rendir sobre todo un pteroilglutamato (ATF) reducido. No está completamente clarificado donde ocurre realmente la reducción en el proceso de absorción. Los folatos son probablemente absorbidos en forma pasiva ya que su concentración en la dieta normal excede mucho a la encontrada en el suero o en la sangre. En opinión del revisor, la evidencia actual sugiere que la principal forma de folatos séricos es la de 5_N - metil ATF (V. Herbert, A.R. Larrabee, y J. M. Buchanan, *J. Clin. Invest.* 41, 1134 (1962)). El cuadro 1 lista la variedad de organismos usados para investigar la actividad de los folatos y aquéllos para los cuales éstos son activos. El *Lactobacillus casei* responde esencialmente a todas las formas de folatos, mientras que el *Streptococcus faecalis* aparentemente es activo únicamente para el monoglutamato, ya sea en la forma oxidada o en la forma de folatos reducidos. El *Leuconostrom citrovorum* o *Pediococcus cerevisiae* es activo únicamente para el ácido folínico al cual por esa razón a veces se le llama factor citrovorum (5_N - formil ATF). Así pues, por ensayos microbiológicos se puede hacer alguna distinción entre las concentraciones de los folatos circulantes. El *L. casei* responde a todas las formas de folatos, pero no permite distinguir los monoglutamatos de los poliglutamatos. La forma en que el folato se encuentra dentro del glóbulo rojo puede ser diferentes a aquellas encontradas en el hígado, suero u otros tejidos. Hay evidencia de que la forma del folato en el glóbulo rojo es predominantemente un poliglutamato o derivados conjugados

del 5_N-Metil ATF; el tratamiento de los glóbulos rojos con una conjugasa preparada del hígado de pollos, aumenta los niveles de folato activo únicamente para el *L. casei*. Se conocen 5 formas de coenzimas de folacín y su principal función es en la transferencia de fragmentos de carbono uno a los metabolitos apropiados en las síntesis de ácido desoxiribonucleico (ADN) y ácido ribonucleico (ARN), metionina y serina (A.L. Luhby y J.M. Cooperman, *Advances in Metabolic Disorders* 1, 263 (1964)). Probablemente las dos reacciones que contribuyen más al pozo fisiológico de fragmentos de carbono uno son aquéllas involucradas en la conversión de glicina a serina y de histidina a ácido glutámico. En la reacción de serina a glicina, el ATF es metilado a 5_N - 10_N metileno ATF (5_N - CH₂ - 10_N); esta forma es esencial para la síntesis de ADN. El ácido formimino-glutámico (FIGLU), un intermediario en la conversión de histidina a ácido glutámico, pierde su grupo formimino (-CH=NH) a ATF dando como resultado la formación de ácido glutámico y de 5_N-formimino ATF. En la deficiencia de folatos o por la mala utilización de los mismos, el FIGLU urinario se encuentra elevado.

	APG ----- Reducido ----- ATF					Folato sérico "Normal" (ng / ml)
	Mono- Gluta- mato	Poly- Gluta- mato Natural	Mono- Gluta- mato	Poly Gluta- mato Natural	5 _N -metil	
<i>L. casei</i> :	+	+	+	+	+	5-17
<i>S. faecalis</i> :	+	—	+	—	—	0- 2
<i>P. cerevisiae</i> :	—	—	+	—	—	0- 2

Tabla 1

Otra coenzima, 5_N - 10_N metenil ATF (-5_N CH-10_N), puede derivarse del formimino ATF o del 5_N - 10_N metileno ATF. El formato que surge en el metabolismo de colina a glicina, o del triptofano reacciona con el ATF para formar aún otra coenzima, 10_N - formil ATF (10_N - CH=O). En la biosíntesis de la metionina, la coenzima es 5_N-metil ATF y en esta reacción, que aparentemente requiere vitamina B₁₂ como co-factor, el grupo metilo se usa para metilar la homocisteína formándose así la metionina. El ATF es regenerado por medio de esta reacción y se encuentra entonces disponible para "atrapar" unidades de carbono 1 adicionales para la síntesis de ADN y de ARN.

La evidencia preponderante sugiere que la deficiencia de folato es extremadamente difícil de producirse en mamíferos a no ser que se administre un antagonista del ácido fólico, o se induzca una deficiencia de vitamina C, o a no ser que se agregue caseína yodada, sustancias germicidas intestinales, o un nivel alto de metionina a una dieta ya deficiente en ácido fólico (G.M. Briggs, *Am. J. Clin. Nutrition* 7, 390 (1959)). La producción de deficiencia dietética de ácido fólico en el hombre puede ser igualmente difícil. Probablemente es digno de enfatizarse en este momento que la administración de un nutrimento a un paciente enfermo, en cualquier dosis que cause remisión de un signo(s) o síntoma(s), generalmente es atribuible a deficiencia dietética de ese nutriente, puede ser de poco valor para determinar los requerimientos dietéticos para el hombre normal. Para determinar los requerimientos de folacín para hombres sanos y normales, Herbert (*Tr. Assn. Am. Phys.* 75, 307 (1962)) se colocó a sí mismo en una dieta baja en folatos (menos de 5 microgramos de "folatos" por día) e informó que después de cuatro meses bajo este régimen, de-

sarrolló una anemia megaloblástica que en la actualidad es un signo *sine quan non* de deficiencia de folato o de vitamina B₁₂.

Por éstos y otros estudios (R. Zalusky y Herbert, *New Engl. J. Med.* 265, 1033 (1961)) se llegó a la conclusión de que los requerimientos dietéticos de el folato son alrededor de 50 mcg por día. H. Vélez, A. Restrepo, J.J. Vitale y E.E. Hellerstein (*Am. J. Clin. Nutrition* 19, 27 (1966)) alimentaron a 6 pacientes que tenían anemia por deficiencia severa de hierro, secundaria a infestación por uncinarias y que además tenían una médula ósea con maduración megaloblástica, con dietas bajas en folatos (menos de 8 mcg por día). Los 6 pacientes se recuperaron con la administración terapéutica de hierro; todos fueron dados de alta en 3 o cuatro meses con médulas óseas normoblásticas. G. Goldsmith (Comunicación personal) también administró dietas bajas en folato a cuatro pacientes, a uno de ellos hasta por un período de siete meses. Ninguno de los pacientes desarrolló signo alguno de deficiencia de folato a pesar de que los niveles de folato sérico eran de 1 nanogramo por mililitro de suero o menos. Así pues, los niveles de folato sérico pueden no ser útiles para predecir una deficiencia de folato. En efecto aún se duda si el hombre, lo mismo que la rata, no puede derivar suficiente folato por la síntesis bacteriana (flora intestinal) y hacer frente a los requerimientos diarios. Además la excreción de FIGLU puede ser de poco valor en el diagnóstico de la deficiencia dietética de folato, ya que este compuesto puede ser encontrado en cantidades excesivas después de una carga de histidina en pacientes con deficiencia de vitamina B₁₂, enfermedad neoplástica, tirotóxicosis o deficiencia de hierro.

En el sprue, o en otras diarreas y estados de malabsorción, la anemia megaloblástica puede ser un hallazgo concomitante. T.W. Sheehy *et al.* (*Blood* 18, 623 (1961)) demostraron que 25 mcg de APG por día provocaron una remisión de la megaloblastosis en un alto porcentaje de los pacientes que ya se encontraban ingiriendo aproximadamente 1000 a 1300 mcg de folato dietético. Se postuló entonces que estos pacientes pueden tener un defecto en la producción y/o la secreción de la enzima o enzimas necesarias para remover los residuos de ácido glutámico de los poliglutamatos de folacín de la dieta. H. Baker, O. Frank, y H. Sobotka (*J. Am. Med. Assn.* 187, 119 (1964)) presentaron evidencia de que pacientes con sprue no tropical pueden estar deficientes en esas enzimas que pueden tanto conjugar o desconjugar los glutamatos a una forma más fácilmente absorbible; estos autores encontraron que el pteroiltriglutamato era absorbido mejor que el folacín o que el pteroildiglutamato.

Otra posible explicación de la deficiencia de folato asociada con los síndromes de malabsorción puede estar relacionada con la circulación enterohepática del folacín. Baker, S. Kumar, y S.P. Swaminathan (*Lancet* 1, 685 (1965)) estudiaron la excreción de ácido fólico en la bilis de 8 personas en ayunas, y en todos los casos la actividad de folatos en el líquido duodenal era más alta que la encontrada en el suero. Así, el paciente con sprue puede depletarse por sí mismo, de los folatos del organismo debido a una reabsorción ineficiente del folato secretado al tracto gastrointestinal.

Hay algunas otras enfermedades en las cuales el metabolismo del folato puede estar alterado. La anemia megaloblástica que se observa en los alcohólicos ha sido usualmente atribuída a malos hábitos dietéticos e ingestas bajas en folato. Recientemente sin embargo, L.W. Sullivan y Herbert (*J. Clin. Invest.* 43, 2048 (1964)) estudiaron pacientes alcohólicos con niveles bajos de folatos y con megaloblastosis. Los tres pacientes fueron subsecuentemente tratados con folacín, pero si a esos pacientes les daban whisky, la médula ósea nuevamente se transformaba en megaloblástica a pesar de que los niveles séricos de folatos habían sido elevados a valores aparentemente normales con la administración de APG. Sin embargo, el efecto del alcohol podía ser inhibido por la administración de grandes cantidades de folato. El mecanismo por el cual el etanol puede producir

megaloblastosis aún no está esclarecido, pero es posible que el efecto sea mediado a través de interferencias en el sistema o sistemas que intervienen en el metabolismo del folato o de las transferencias de fragmento 1.

En ciertos síndromes de tumores malignos la megaloblastosis también puede estar presente. Se ha arguido que en tales situaciones donde hay una gran proliferación celular, puede haber "un aumento de las necesidades" del folacín; sin embargo esta teoría ha sido puesta en duda por algunos autores. También se ha demostrado que algunas drogas anticonvulsivas pueden producir megaloblastosis, y probablemente estas drogas actúan como análogos anti-fólicos. La deficiencia de hierro también puede producir un defecto funcional en la utilización del folato. Vitale *et al.* (*J. Nutrition* 88, 315 (1966)) demostraron que la actividad de la enzima formimino-transferasa estaba significativamente disminuida en animales con deficiencia de hierro y estaba asociada con un marcado aumento en la excreción urinaria del FIGLU. Previamente I. Chanarin, D. Rothman y V. Berry (*Brit. Med. J.* 1, 480 (1965)) demostraron que adultos con anemia, por deficiencia de hierro, también tenían un aumento marcado en la excreción del FIGLU después de una dosis de histidina. Más recientemente Chanarin *et al.* (*loc. cit.*) concluyeron que la adición de hierro a la dieta de mujeres embarazadas reducía la frecuencia de anemia megaloblástica. Estos autores sugirieron además que la deficiencia de hierro puede "producir como efecto inicial signos de deficiencia de folato". La conclusión de estos autores no se justifica en base a los datos presentados.

Hay aún otros estudios que hacen referencia a la relación entre la deficiencia de hierro y el metabolismo del folato. Estudios realizados en niños con deficiencia de hierro, muestran que la anemia megaloblástica o la médula ósea megaloblástica no siempre están confinadas a aquellos casos con los niveles sanguíneos más bajos de ácido fólico (Y. Matoth, R. Zamir, S. Bar-Shani y N. Grassowicz, *Pediatrics* 33, 694 (1964)). La rápida depuración del folato administrado por la vía intravenosa, puede ser observada en anemias con deficiencia de hierro no complicadas. Esta depuración sin embargo, no necesariamente implica deficiencia de folato sino más bien una rápida utilización o "demandas aumentadas"; ejemplo: el embarazo.

Hay bastante evidencia de que en el hombre y en los animales deficientes en vitamina B₁₂ se acumula el 5_N - metil ATF resultando en una deficiencia relativa de ATF necesario para transferir fragmentos de carbono uno para la síntesis de ADN y de ARN. Los resultados de diversas investigaciones utilizando bacterias, animales y seres humanos, apoyan el concepto generalmente aceptado de que la vitamina B₁₂ es un cofactor esencial para el sistema o sistemas involucrados en la transferencia de los grupos metilo del 5_N - metil ATF a homocisteína y que en la deficiencia de vitamina B₁₂ "se acumula" el 5_N - metil ATF en los tejidos y en el suero. Sin embargo, algunos creen que el ATF y no el 5_N - metil ATF es el que se acumula en la deficiencia de vitamina B₁₂ en el humano. Estos investigadores postulan que el aumento de la excreción urinaria de FIGLU, en seres humanos y animales deficientes en vitamina B₁₂, pueda deberse a un defecto en la formimino-transferasa, la enzima involucrada en la transferencia del grupo formimino del FIGLU al ATF. Los autores no explican sin embargo, el efecto de la metionina de disminuir la excreción urinaria del FIGLU en animales y humanos deficientes en vitamina B₁₂. El efecto de la metionina en mitigar muchos de los signos de la deficiencia de la vitamina B₁₂ se cree que está relacionado con su efecto sobre la síntesis de 5_N - 10_N metileno ATF reductasa, una coenzima involucrada en la conversión de 5_N - 10_N metileno ATF al 5_N - metil ATF. Esta observación todavía está por confirmarse en los mamíferos. De cualquier manera podría, esperarse que la inhibición de la reductasa del folato podría prevenir el "acumulo" del 5_N - metil ATF en la deficiencia de vitamina B₁₂.

La deficiencia de folacín (a distinguirse de la deficiencia de folacín dietético) no importa cual sea su causa, produce una displacia megaloblástica, anemia macrocítica y tal vez glositis

Todavía no se ha probado que la deficiencia de folacín produzca en realidad cambios morfológicos al nivel del tracto gastrointestinal. Por el contrario, cambios morfológicos en el intestino delgado pueden precipitar una deficiencia de folacín. Finalmente es posible que la deficiencia del folato dietético no sea el principal problema; más bien, una deficiencia secundaria de folato (deficiencia inducida de folato) puede ser el más serio problema de salud pública en el mundo. Todavía hay mucho que aprender con respecto al metabolismo del folato. La deficiencia secundaria de folato puede resultar de un fallo en la absorción del folato dietético o del folato circulante del ciclo entero-hepático de un aumento en la excreción urinaria de ATF, de un aumento de la destrucción del folato, de interferencia en la síntesis y/o en la activación de enzimas necesarias para la utilización del folato o de una producción de sustancias antagonistas. El mecanismo por el cual signos de deficiencia de folato se presentan en las neoplasias, tirotoxicosis, deficiencia de hierro, embarazo, enfermedades mieloproliferativas, y en procesos hemolíticos, aún no está esclarecido.

No habría sido posible revisar toda la excelente literatura que ha aparecido sobre el tema del folacín a partir de 1956, en que se publicó la última serie de "Present Knowledge". El lector puede encontrar las referencias listadas muy útiles, lo mismo que las referencias citadas a su vez en estos trabajos.

CAPITULO XXVI

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE LOS GRUPOS METILO EN NUTRICION

Wendell H. Griffith, Ph.D. y Helen M. Dyer, Ph.D.

Siendo que la revisión más reciente sobre los grupos metilo en nutrición apareció en el volumen de 1956 de "Present Knowledge", esta revisión incluye únicamente referencias a partir de 1955. En el libro *Transmethylation and Methionine Biosynthesis* editado por S.K. Shapiro y F. Schlenk (University of Chicago Press, 1965) los compuestos fuentes de grupos metilo se discutieron en relación a la síntesis, a las diversas vías del metabolismo, a los metabolitos intermedios y también con relación a las enzimas y coenzimas que participan en las diversas reacciones en los microorganismos y tejidos de los mamíferos.

El origen de los grupos metilo lábiles puede ser endógeno y exógeno. Las fuentes naturales son principalmente la colina, la betaína y la metionina. La biogénesis de la colina parece ser universal en la naturaleza y es el resultado de la transferencia de tres grupos metilo a un aceptador que puede ser igualmente aminoetanol libre o fosfatidil-aminoetanol.

En el organismo la neogénesis de los grupos metilo lábiles a partir del carbono del formato, requiere ácido fólico. El sistema ácido fólico-tetrahidrofólico es un mecanismo único para la reducción del carbono a un grupo metilo, el cual puede ser luego trasladado a un aceptador de grupos metilo. La colina se convierte en betaína y la betaína a su aldehído, el cual traslada un grupo metilo al ácido tetrahidrofólico (THF). La cobalamina (vitamina B₁₂) juega un papel importantísimo como regulador en el traslado de los grupos metilo al THF. Los tres grupos metilo de la colina regresan al reservorio de fragmentos de un carbono, al nivel del 10_N-hidroximetil-THF.

La información concerniente a las apoenzimas y coenzimas que actúan en cada paso esta muy incompleta. Además, hasta que grado los grupos metilenos del 5_N, 10_N-metilen-THF pueden ser trasladados a los aceptadores por un proceso reductor formador de grupos metilo, es aún desconocido y la reacción de la transmetilación del grupo metilo del 5_N-metil-THF no es muy clara. Una revisión reciente discute el papel del folacín, y su forma fisiológicamente activa en las reacciones de metilación, su relación con vitamina B₁₂, como un posible cofactor; y la posible implicación de una deficiencia de ácido fólico en numerosas condiciones patológicas (*Nutrition Reviews* 24, 289 (1966)).

La S-adenosilmetionina llamada también metionina activa, es el más importante donador de los grupos metilo para las reacciones de trasmetilación. Su síntesis a partir de metionina requiere ATP y es una reacción catalizada por la enzima S-adenosilmetionina sintetasa. Otras reacciones de transmetilación en las que no participa la metionina activa y no requieren ATP, sirven únicamente para la síntesis de la metionina.

La mayoría de los estudios en nutrición concernientes a los grupos metilo, utilizan dietas deficientes en colina. Signos de deficiencia de grupos metilo lábiles, son de esperarse cuando

las demandas de los fosfolípidos de la colina u otros metabolitos que contienen grupos metilo exceden el suministro dietético de grupos metilo lábiles y la capacidad del organismo para llevar a cabo la síntesis *de novo*. Así pues, de igual importancia que el contenido de colina en la dieta es la cantidad y la calidad de la proteína (por su contenido de metionina y de cistina), así como también, la proporción adecuada de folacín y de cobalamina. También son factores importantes, la edad y la especie de los animales. El efecto es mucho más crítico en los animales jóvenes en rápido crecimiento. Un aumento muy marcado de la actividad de la deshidrogenasa de la colina (oxidasa) en el hígado y los riñones, ha sido observado precisamente durante la edad en que las ratas son particularmente susceptibles a una carencia de colina.

Hígados graso y las lesiones de los riñones continúan siendo de primordial interés como manifestaciones de la deficiencia de colina. La grasa que se acumula en el centro de los lóbulos hepáticos es debida a hipolipotropismo, y, la que se acumula en la periferia de dichos lóbulos se cree que es debida a la actividad del lóbulo anterior de la pituitaria. Además de las dos manifestaciones clásicas de la deficiencia de colina, como son daño renal e hígado graso, y del reciente interés por el posible papel de la colina en arterioesclerosis, la deficiencia de colina ha sido asociada con hemocromatosis y con cáncer del hígado en ratas.

Las consecuencias graves de una carencia de colina en la dieta, han sido descritas en muchas especies como son: las ratas, los pollos, los pavos y los conejos. En un estudio se observó que los cobayos jóvenes crecieron muy poco con una dieta deficiente en colina y murieron entre la tercera y cuarta semana, pero sólo ocasionalmente mostraron estos animales infiltración grasa en el hígado (M.E. Reid, *J. Nutrition* 56, 215 (1955)). La metionina, la betaína o la etanolamina, no sirven individualmente como substitutos de la colina, pero una combinación de la metionina con monometilaminoetanol permite un excelente crecimiento. En cobayos alimentados durante tres semanas con una dieta que contenía colina y después alimentados con una dieta libre de colina durante tres semanas más, pudo observarse que al final la grasa principió a acumularse en el hígado de estos animales (*ver Nutrition Reviews* 15, 339 (1957)).

Los cobayos, así como los pollos, pero no la rata, fueron incapaces de metilar directamente la etanolamina. Ratones machos albinos, a la edad del destete desarrollaron hígados extremadamente grasos, con una dieta basal que contenía homocistina, con o sin adición de folacín y de vitamina B₁₂ (H.E. Sauberlich, *J. Nutrition* 68, 141 (1959)). La presencia de colina o de betaína previno en gran parte la acumulación de grasa, y la suplementación de la dieta con colina, folacín y vitamina B₁₂ dió como resultado niveles normales de grasa en el hígado.

La actividad de la deshidrogenasa de la colina en el hígado, fue marcadamente reducida en ratones alimentados con la dieta basal suplementada sólo con homocistina. La reducción de la actividad de esta enzima fue prevenida de una manera efectiva por la colina, en gran parte por el folacín y en un menor grado por la vitamina B₁₂. La betaína no fue inefectiva. A diferencia de la rata y el pollo, la suplementación de metionina con colina, folacín, homocistina y vitamina B₁₂ en la dieta del ratón, tiene relativamente poco efecto (*ver Nutrition Reviews* 18, 58 (1960)). El requerimiento de colina en el mono mandril es menor que el de la rata (*Ibid.* 23, 270 (1965)). Estos monos alimentados durante dos meses con una dieta deficiente en colina, desarrollaron un hígado graso moderado, el cual no progresó durante tres meses adicionales en la misma dieta. Las lesiones producidas fueron reversibles por la inclusión de colina en la dieta.

Una investigación sobre la causa del efecto de proteínas en lipotropismo, sugiere que además de metionina, otros aminoácidos tales como la treonina, la lisina y el triptofano, pueden tener efectos específicos, no relacionados con la calidad de las proteínas para crecimiento (*Nutrition Reviews* 14, 278 (1956)). Mientras la colina es implicada en el transporte de grasa del hígado

(en la forma de lecitinas) y como necesaria para la oxidación de los ácidos grasos en el hígado, la treonina, puede también tener alguna acción específica en la oxidación de las grasas.

Muchas ratas deficientes en colina no pudieron sobrevivir durante un período de seis semanas a temperaturas de 1 a 30°C (Ver *Nutrition Reviews* 14, 284 (1956)). Una cantidad menor de lípidos fue encontrada en el hígado y en los riñones de estas ratas cuando se compararon con los grupos controles de ratas deficientes en colina mantenidas a 22°C, y en las cuales la muerte fue atribuida a otras causas. Las ratas mantenidas a baja temperatura con colina adicionada a la dieta, mostraron una alta incidencia de deposición de grasa en las arterias coronarias, lo cual no se observó en las ratas sobrevivientes sin el suplemento de colina.

La omisión de colina de la dieta, influencia grandemente la diferencia en la cantidad de grasa hepática entre ratas alimentadas con grasas vegetales o animales (*Ibid.* 15, 219 (1957)). Los ácidos grasos saturados de cadena larga, causan deposición de cantidades mayores de grasa que los ácidos grasos no saturados de cadena corta. Se requiere 0.15 por ciento de cloruro de colina, para reducir los niveles de grasa del hígado resultantes de 30 por ciento de manteca en la dieta, comparados con 0.12 por ciento de cloruro de colina, cuando se ha usado 30 por ciento de aceite de maíz.

Con raciones bajas de colina, suplementadas o no con metionina y triptofano, la grasa hepática fue más alta con mantequilla que con aceite de maíz; sin embargo el crecimiento de las ratas fue mejor con mantequilla. En un estudio sobre las respuestas a diferentes dosis de colina y betaína, la colina fue tres veces más efectiva que la betaína para prevenir el hígado graso y las lesiones renales, en ratas recién destetadas, alimentadas con una dieta que contenía vitamina B₁₂ y suficiente proteína para mantener el peso corporal sin ningún otro suplemento (*Nutrition Reviews* 15, 48 (1957)). El efecto de la metionina fue comparable al de la betaína a niveles bajos en bases molares, pero fue progresivamente menos efectiva, conforme se aumentó la concentración. La grasa hepática no se normalizó con agregado de metionina suplementada o no con 0.2 por ciento de cistina.

Una dieta con 16 por ciento de ácidos grasos no saturados y 3 por ciento de colesterol parece ser tóxica a ratas recién destetadas (*Ibid.* 16, 186 (1958)). Los síntomas son similares a los producidos por una deficiencia de colina y pueden ser prevenidos si se incluye en la dieta o se inyecta una cantidad extra de colina, o si los ácidos grasos se administran como triglicéridos. Estos resultados ilustran lo complejo de los resultados, cuando los procesos de absorción, transporte y excreción de las grasas se estudian simultáneamente.

El hecho de no encontrarse lípidos séricos elevados, en ratas recién destetadas alimentadas con dietas que contienen de 0.17 a 1.95 g. de colina por 100 g. de una dieta con 40 por ciento de grasa y 2% de colesterol, puede estar relacionado a la resistencia de la rata a desarrollar arteriosclerosis, y puede ser debido a la eficiente remoción hepática de los lípidos sanguíneos en esta especie (*Nutrition Reviews* 20, 183 (1962)).

A pesar de que esencialmente no hay diferencia en el patrón de ácidos grasos de los lípidos hepáticos, en ratas deficientes en colina y en ratas suplementadas con colina, el tipo de grasa y de carbohidratos en la dieta, si es un factor determinante en la composición de los ácidos grasos, de los triglicéridos, diglicéridos y fosfolípidos del hígado (*Ibid.* 23, 189 (1965)). Es importante hacer énfasis sobre la relación entre la composición de la grasa de la dieta, la del hígado y la de los depósitos de grasa, en vista de que alteraciones en el patrón de grasa en la dieta del hombre, han sido recomendadas como un medio para reducir los niveles de colesterol sérico y por consiguiente, prevenir las enfermedades coronarias.

La síntesis neta de colina fue aproximadamente de 7 mg. por 100 g. de rata por día, o una cantidad igual a la cantidad de colina pre-formada suministrada por 100 g. de una dieta con 0.1 por ciento de colina (*Nutrition Reviews* 23, 351 (1965)). Las velocidades de recambio en el hígado de ratas fueron: para fosfatidilserina 142 minutos, para fosfatidiletanol-amina 127 minutos, y para fosfatidilcolina 72 minutos.

El rápido recambio de la fosfatidilcolina, junto con su muy limitada síntesis, suministra una explicación adecuada respecto al por qué la colina se convierte en un nutriente esencial bajo ciertas condiciones dietéticas. En contraste con el aumento producido por riboflavina y ácido fólico, doblando el contenido de colina en la dieta de las ratas, causa una disminución significativa en la vitamina B₁₂ libre y total, del hígado y los riñones, a un nivel aproximado al resultante de dietas muy deficientes en esta vitamina (*Ibid.* 18, 16 (1960)). También se encontró muy poco o ningún cambio en los niveles de hemoglobina o en los depósitos de colina en el hígado y en los riñones de estos animales.

En ratas, la colina es probablemente convertida a carnitina o a un derivado de carnitina (*Nutrition Reviews* 18, 52 (1960)). La carnitina no puede reemplazar a la colina, como un factor lipotrópico en las ratas recién destetadas. La carnitina agregada con palmitato a homogenizados de hígado de ratas aumenta la formación de cuerpos cetónicos pero no tiene ninguna influencia sobre la producción de dióxido de carbono. Los resultados sugieren que en la rata hembra, la lecitina puede ser formada principalmente por metilación de la fosfatidiletanolamina o de la fosfatidilserina y que en la rata macho la síntesis de lecitina a partir de diglicéridos y citidina difosfocolina puede ser la vía más importante (*Ibid.* 22, 218 (1964)).

Algunos síntomas como fibrosis dérmica, necrosis de la punta de la cola, de la punta de los dedos y de los túbulos renales, así como opacocidad del cristalino, fueron inducidos en ratas alimentadas con una dieta deficiente en colina, con un contenido de grasa normal o alto, cuando estas ratas fueron inyectadas con 5 - hidroxitriptamina (*Nutrition Reviews* 16, 347 (1958)). Las lesiones morfológicas pueden ser el resultado de la compresión de pequeños vasos en las células epiteliales tubulares llenas de grasa. Las ratas de edad avanzada no mostraron síntomas cuando se alimentaron con dietas deficientes en colina, pero los síntomas se desarrollaron cuando se les administró serotonina.

La metionina así como otras fuentes de grupos metilo lábiles, prolongaron la sobrevivencia de ratas tratadas con materiales tiroactivos (caseína iodada) y que recibían caseína como fuente proteica (*Nutrition Reviews* 17, 213 (1959)). La actividad de la deshidrogenasa de la colina del hígado, decreció en ratas hipertiroideas alimentadas con caseína, en comparación con ratas alimentadas con carne de cerdo cocida.

La influencia de las bacterias intestinales sobre la nutrición de los animales, fue sugerida por el hallazgo de que cuando 20% de Sorbitol (un carbohidrato de baja digestibilidad), reemplazó a una cantidad igual de sacarosa en una dieta deficiente en vitaminas, los síntomas de la deficiencia vitamínica no se presentaron (*Nutrition Reviews* 18, 182 (1960)). Parece ser que suficiente cantidad de colina fue sintetizada a partir de sorbitol para prevenir daño renal, pero no suficiente para prevenir hígado graso. El compuesto 2-amino-2-metil-1-propano, posee propiedades de anticolina en las ratas (*Ibid.* 15, 277 (1957)). Fueron necesarias cantidades mucho mayores de este compuesto para producir lesiones renales en las ratas viejas que en las ratas jóvenes; la severidad de las lesiones depende de la edad de los animales.

El efecto fue contrarrestado por suplementación con colina, observándose muy poco efecto con betaína, metionina y caseína. Si la colina, es bruscamente removida de la dieta de ratas viejas, se producen lesiones renales severas. El efecto de la suplementación con colina ha sido investigado en ratas con hígado graso producido por un exceso de niacina en dietas con un alto contenido en grasa (L.L. Rikans, D. Araka, y D.C. Ederquist, *J. Nutrition* 85, 107 (1965)) y, también en hígado graso asociado con la ingestión de alcohol (W.S. Hartroft, E.A. Porta, y A. Suzuki, *Quart. J. Stud. Alcohol*. 25, 427 (1964)).

La contraparte experimental de la cirrosis pigmentaria humana, ha sido producida en ratas, alimentándolas con una dieta deficiente en colina suplementada con cantidades adicionales de hierro (*Nutrition Reviews* 19, 83 (1961)). La dieta deficiente en colina sin la adición de citrato férrico amoniacal produjo hígado graso y cirrosis, pero no hemocromatosis (*Ibid.* 23, 189 (1965)).

La metilación y la deshidroxilación de compuestos hidroxiaromáticos en el organismo animal ha sido muy estudiada (*Nutrition Reviews* 15, 311 (1957)), lo mismo que la formación y el metabolismo de compuestos fisiológicamente activos, por acción de las N - y O - metiltransferasas (*Transmethylation and Methionine Biosynthesis* pag. 71.; F.L. Margolis, J. Roffi, y A. Jost; *Science* 154, 275 (1966)).

Hasta la fecha, no ha podido demostrarse en el hombre una asociación directa entre la deficiencia de colina y cualquier otra enfermedad específica. Sin embargo, la colina es bastante usada para el tratamiento de cirrosis, hepatitis y condiciones con hígado graso.

Entre otros estudios recientes están los siguientes: El efecto de colina y sarcosina sobre los dinucleótidos mitocondriales (L. Szarkowska y M. Erecinska, *Acta Biochim. Polon.* 12, 179 (1965)). La oxidación de la colina en las mitocondrias del hígado de las ratas (D.R. Wilken, T. Kagawa, y H.A. Lardy, *J. Biol. Chem.* 240, 1843 (1965)). El efecto de la colina en los cambios de las ultraestructuras hepáticas asociados con la administración intravenosa de grasa (N.W. King, L.D. Jones, H. Sasaki y F. Schaffner, *Am. J. Clin. Nutrition* 16, 88 (1965)). La composición química y el contenido de enzimas de la membrana plasmática aislada de hígados de ratas (P. Emmelot, C.J. Bos, E.L. Benedetti y P.H. Rumke, *Biochim. Biophys. Acta* 90, 126 (1964)); amilasas séricas y hepáticas y actividad de las transaminasas, cirrosis e hígado graso por deficiencia de colina (S.J. Winawer, S.A. Broitman, L.S. Gottlieb y N. Zamcheck, *Gastroenterology* 48, 216 (1965)). Distrofia muscular en conejos en dieta deficiente en colina (V. Srivastava, A. Devi y N.K. Sarkar, *J. Nutrition* 86, 298 (1965)) y otros muchos informes relacionados con acetilcolina.

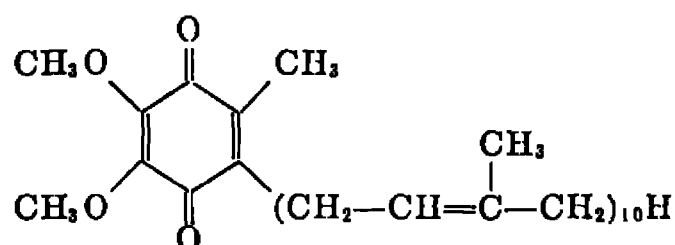
CAPITULO XXVII

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE LA COENZIMA Q

Oswald A. Roels, Ph.D.

El grupo de compuestos de coenzima Q fue independientemente descubierto por grupos de investigadores en campos de trabajo diferentes. Un grupo estaba investigando los efectos de deficiencia de vitamina A y el papel de esta vitamina en el metabolismo, separadamente de su función en el ciclo visual. El segundo grupo estudiaba el sistema de transporte de electrones en la mitocondria.

Los investigadores en el campo de la vitamina A descubrieron que un compuesto con una absorción máxima de 272 mμ estaba presente en mayores cantidades en la fracción insaponificable de hígado de ratas deficientes en vitamina A que en los de animales normales (J.S. Lowe, R.A. Morton y R.G. Harrison, *Nature* 172, 716 (1953)). La sustancia extraída de la fracción insaponificable del hígado de ratas deficientes en vitamina A fue llamada Ubiquinona-50. Subsecuentemente, ubiquinona-50 fue aislada de el corazón de cerdo, y su estructura molecular fue establecida (Morton et al., *Helv. Chim. Acta* 41, 2343 (1958)). A medida que estos estudios progresaban, otro grupo de investigadores estudiaban el posible papel de los lípidos en el sistema de transporte de electrones en la mitocondria, estimulados por el descubrimiento de que el alfa-tocoferol jugaba un papel en los sistemas de transporte de electrones (A. Nason e I.R. Lehamn, *Science* 122, 19 (1955)). Un examen sistemático de los lípidos extraídos de fuentes tan variadas como mitocondria de corazón de res y de coliflor mostró que un compuesto con una absorción máxima de 275 mμ fue aislado a partir de mitocondria de corazón de res llamado Coenzima Q-10 (F.L. Crane, Y. Hatefi, R.L. Lester y C. Widmer, *Biochim. Biophys. Acta* 25, 220 (1957)). K. Folkers y colaboradores (D. E. Wolf et al., *J. Am. Chem. Soc.* 80, 4752 (1958)) establecieron que ambas sustancias eran idénticas y que tenían la siguiente estructura:

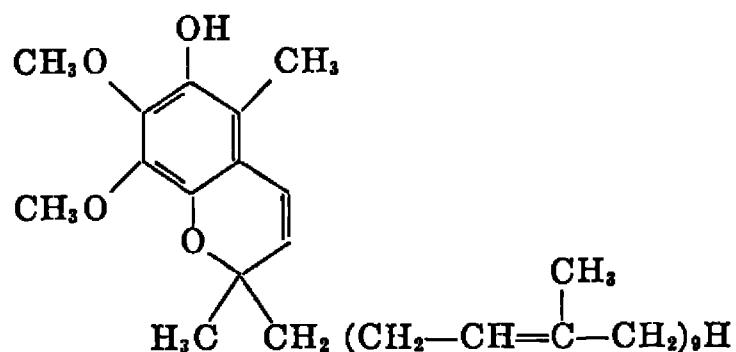


Coenzima Q-10 = Ubiquinona-50

Desde su descubrimiento, ambos nombres: coenzima Q y ubiquinona han sido utilizados para este tipo de compuestos. El número que sigue a la ubiquinona en esta nomenclatura indica el número de átomos de carbono en la cadena lateral isoprenoide mientras que el número que sigue a la coenzima Q indica el número de grupos isoprenoides en la cadena lateral.

Pronto después de este trabajo, homólogos de ubiquinona-50 con 45, 40, 35 y 30 átomos de carbono en la cadena lateral fueron aislados de diferentes microorganismos (Lester y Crane, *Biochim. Biophys. Acta* 32, 492 (1959); V. Gloor *et al.* *Helv. Chim. Acta* 41, 2357 (1958)).

Morton y colaboradores, quienes fueron responsables del descubrimiento de la ubiquinona-50 en hígado de ratas deficientes en vitamina A, encontraron que una segunda sustancia con una absorción máxima a 283 mμ podía ser también aislada de la fracción insaponificable de hígado de ratas deficientes en vitamina A. Posteriormente, los mismos autores encontraron que esta sustancia estaba también presente en el riñón normal humano. Los autores saponificaron entonces alrededor de 100 libras de riñones humanos y extrajeron el material insaponificable. Por medio de purificación cromatográfica obtuvieron 153 mg de un producto cristalino al cual llamaron ubicromenol-50 (D.L. Laidman, Morton, J.Y.F. Paterson y J.F. Pennock, *Chem. Ind.*, 1019 (1959); *Biochem. J.* 74, 541 (1960)). El ubicromenol-50 tiene la siguiente estructura:



Ubicromenol-50

Ubiquinona-50 puede ser fácilmente convertida *in vitro* a ubicromenol-50 absorbiendo ubiquinona-50 sobre alúmina seguida por elución con ácido clorhídrico al 10% en acetona (J. Links, *Biochim. Biophys. Acta* 38, 193 (1960)). J. Green y colaboradores (Green, E.E. Edwin, A. T. Diplock, y D. McHale, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2, 269 (1960)), claman sin embargo, que la ubiquinona-50 no fue convertida al cromenol correspondiente cuando fue adsorbida en columnas de alúmina. Esta controversia dió origen a la pregunta de que si el ubicromenol era un compuesto que ocurría naturalmente en los tejidos animales o era simplemente un artefacto producido durante el proceso de aislamiento del compuesto a partir de la fracción insaponificable. Esta controversia fue claramente decidida por F.W. Hemming, Morton y Pennock (*Biochem. J.* 80, 445 (1960)), quienes demostraron que el compuesto aislado por ellos a partir de riñones humanos era ubicromenol-50, un compuesto ópticamente activo, mientras que el ubicromenol-50 preparado por ciclización de la ubiquinona-50 era un compuesto racémico.

Los compuestos del grupo de la coenzima Q se encuentran ampliamente distribuidos. Se les encuentra en diferentes organismos, en frijoles de soya, muchos aceites vegetales, en protozoos y en una gran variedad de tejidos animales.

Una revisión amplia sobre ubiquinona y compuestos del grupo de la coenzima Q ha sido publicado por O. Wiss y Gloor (*Vitamins and Hormones* 18, 485 (1960)). A.F. Wagner y Folkers en *Vitamins and Hormones* p. 435 (John Wiley & Sons, Inc. New York, 1964) han discutido ampliamente la separación, determinación de estructura, síntesis y biosíntesis del grupo de compuestos de coenzima Q. Una excelente revisión del status de las vitaminas y la ubiquinona ha sido publicada recientemente por Hemming y Pennock (*Biochemistry of Quinones*, R.A. Morton, Editor, p. 287. Academic Press, New York, 1965).

La cadena isoprenoide lateral de la ubiquinona es biosintetizada a partir de acetato o mevalonato. R.E Olson y colaboradores han demostrado que la fenilalanina es precursora del anillo de benzoquinona de la ubiquinona (*Biochem. Biophys. Res. Commun.* 5, 443 (1961)).

Morton y W.E.J. Phillips en estudios cuidadosamente controlados demostraron que tanto la ubiquinona como el ubicromenol aumentan en el hígado de ratas deficientes en vitamina A (*Biochem. J.* 73, 416 (1959)). Hemming, Pennock y Morton (*Biochem. J.* 68, 29P (1958)) encontraron que el aumento en ubiquinona en el hígado de ratas deficientes en vitamina A estaba principalmente asociado con las fracciones de microsomas y el sobrenadante, mientras que la concentración de este compuesto en las mitocondrias permanecía aproximadamente igual que la de las mitocondrias del hígado de animales normales, en los cuales la mayor concentración de ubiquinona se encuentra asociada a la mitocondria. La deficiencia de vitamina A no causó cambios detectables en la concentración de ubiquinona en el hígado de pollos, mientras que en el cobayo, la deficiencia de esta vitamina disminuye o no afecta los niveles en el hígado. V.C. Joshi y T. Ramasarma (*Biochim. Biophys. Acta* 115, 294 (1966)) han demostrado recientemente que la acumulación de ubiquinona en el hígado de ratas deficientes en vitamina A es debida más probablemente a una disminución en el catabolismo del compuesto que a un aumento en su síntesis.

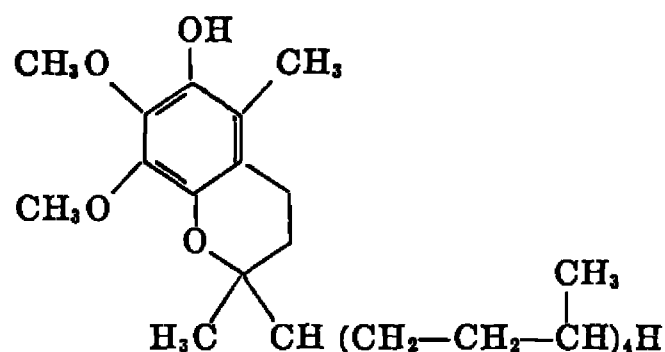
En animales experimentales, muchos autores han investigado el efecto de deficiencia de vitamina E sobre los niveles tisulares de ubiquinona. Aun cuando, resultados contradictorios han sido publicados, parece ser que la deficiencia de vitamina E no influye sobre los niveles de ubiquinona en tejidos de ratas. En conejos, sin embargo, los niveles de ubiquinona fueron más bajos en corazón, hígado, músculo esquelético y tejido graso de animales deficientes, que aquellos encontrados en animales suplementados con tocoferol.

En vista de la correlación existente entre el status en vitamina A del animal y el nivel de ubiquinona en el hígado, Wiss, Gloor y F. Weber emprendieron un estudio en pollos sobre el efecto de la ubiquinona en la dieta (*Ciba Foundation Symposium "Quinones in Electron Transport"*, G.E. W. Wolstenholme y C.M. O'Connor, Editores. Little, Brown & Company, Boston, 1961). Estos autores encontraron que cuando la ubiquinona se administraba a un nivel de 8 mg. por kilogramo de dieta, hubo una pequeña estimulación en el crecimiento de los pollos. Sin embargo, en vista de su amplia distribución, así como su síntesis por una gran variedad de organismos, la ubiquinona no es obviamente un componente esencial de la dieta.

La función metabólica de la coenzima Q está aparentemente asociada con la oxidación de succinato y de la forma reducida de la nicotinamida adenina dinucleótido. Aparentemente, también se encuentra involucrada en los sistemas de transporte de electrones y puede ser un compuesto integral de la oxidasa del aldehído del hígado. (K.V. Rajagopala, I. Fridovich, y P. Handler, *J. Biol. Chem.* 237, 922 (1962)). B.T. Sotery (*Arch. Biochem. Biophys.* 114, 431 (1966)) demostró que la ubiquinona puede ser extraída por medio de una mezcla de hexano-metanol-trietanolamina, de las partículas de transporte de electrones derivadas de corazón de res.

Debido a la similitud estructural entre los tocoferoles y los miembros del grupo de compuestos de coenzima Q, el efecto de suplementos dietéticos de ubiquinona y sus análogos sobre la deficiencia de vitamina E ha sido estudiada en diferentes animales. E. Söndergaard, M.L. Scott y H. Dam (*J. Nutrition* 78, 15 (1962)) encontraron que la aparición de encefalomalacia y de distrofia muscular podía ser retardada en pollos alimentados con una dieta deficiente en vitamina E si éstos eran suplementados con ubicromenol o con fitil ubicromenol (o sea cromenol con la misma cadena lateral saturada que los tocoferoles). La ubiquinona-30 o ubiquinona-50 no tuvo efecto. La administración de alfa-tocoferol, sin embargo, fue mucho más eficiente que la administración de ubicromenol en la cura o prevención de la encefalomalacia y la distrofia muscular en pollos, cau-

sada por una dieta deficiente en vitamina E. El cromanol de hexahidrocoenzima Q-4 previno la encefalomalacia en pollos deficientes en vitamina E; también previno el síndrome de resorpsió-gestación en las ratas deficientes en vitamina E y curó la distrofia muscular nutricional en cone-jos deficientes en vitamina E (J.L. Smith *et al.*, *Arch. Biochem. Biophys.* 101, 388 (1963)). El Cromanol de hexahidrocoenzima Q-4 tiene la siguiente estructura:



Cromanol de hexahidrocoenzimas Q-4

Se sabe que los cromanoles de coenzima Q no ocurren naturalmente pero pueden ser sinteti-zados en el laboratorio. El mismo cromanol de hexahidrocoenzima Q-4 curó la anemia y la dis-trofia muscular después de unos cuantos días de su administración a monos de la especie *Rhesus* (J.S. Dinning, C.D. Fitch, C.H. Shunk y Folkers, *J. Am. Chem. Soc.* 84, 2007 (1962)). Los mismos autores observaron que monos anémicos y distróficos desarrollaron reticulocitosis como respuesta al tratamiento con un componente normalmente sintetizado por el cuerpo, la coenzima Q₁₀.

Completa remisión de la anemia se logró por medio de terapia con hexahidrocoenzima Q₄ (Fitch *et al.*, *Arch. Biochem. Biophys.* 112, 488 (1965)). Fitch y Folkers (*Biochem. Biophys. Res. Commun.* 26, 128 (1967)) encontraron que la hexahidrocoenzima Q₄ y el 6-cromanol de he-xahidrocoenzima Q₄ protegen los eritrocitos de niños prematuros de la hemólisis causada por el peróxido de hidrógeno.

Se ha demostrado que el ubicromenol tiene *in vitro* propiedades definitivas antioxidantes (J. Biere, en *Nutriton Reviews* 21, 129 (1963)). Ha sido por consiguiente propuesto que el efecto de algunos de los miembros del grupo de coenzima Q que simula al de la vitamina E, puede estar relacionado a sus propiedades antioxidantes. El notorio efecto curativo de el cromanol de hexa-hidrocoenzima Q-4 en una variedad de síntomas causados por deficiencia de vitamina E en pollos, ratas, conejos y el mono *Rhesus*, debían estimular grandemente la investigación en este campo de metabolismo de lípidos para establecer la función exacta de la vitamina E y la de los com-puestos del grupo de la coenzima Q en el metabolismo al nivel celular. Simplemente una conclu-sión de tipo general con respecto a las "propiedades antioxidantes" de estos compuestos no es suficiente para explicar su función en las reacciones metabólicas.

CAPITULO XXVIII

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE LOS MINERALES

Harold H. Sandstead, M.D.

El desarrollo de métodos espectroscópicos rápidos y sensitivos y la aplicación de técnicas usando radioisótopos han hecho posible un avance acelerado del conocimiento sobre el papel de los minerales en las funciones vitales del organismo. A pesar de que los oligoelementos son omnipresentes en la naturaleza se ha hecho más y más evidente que pueden ocurrir deficiencias tanto en el hombre como en los animales, bajo ciertas condiciones ecológicas.

Los efectos tóxicos de excesos de minerales esenciales y no esenciales han sido aclarados sobre todo en los últimos 10 años. H.A. Schroeder y J.J. Balassi (*J. Chronic Dis.* 14, 236, 408 (1961)) han revisado la toxicidad del cadmio y del plomo sobre los sistemas cardiovascular y renal y los efectos sobre la longevidad en el hombre y en los animales.

* El organismo animal requiere 7 elementos en "macro" cantidades: calcio, cloro, magnesio, potasio, fósforo, sodio y azufre; y por lo menos 7 en cantidades trazas: cobalto, cobre, yodo, hierro, manganeso, selenio y zinc. Además el cromo, el flúor y el molibdeno parecen tener un papel muy importante en el metabolismo humano. Otros oligoelementos encontrados en cantidades significativas en el hombre han sido revisados por E.J. Underwood (*Trace Elements in Human and Animal Nutrition, Second Edition. Academic Press, New York, 1962*). Estos otros oligoelementos son probablemente importantes en la nutrición humana; sin embargo, su papel todavía no está establecido. Una revisión detallada de la composición química corporal ha sido recientemente publicada por E.M. Widdowson y J.W.T. Dickerson (*Mineral Metabolism, vol. II A, C.L. Comar y F. Bronner, Editores, p. 1. Academic Press, New York, 1964*). * Los requerimientos diarios de muchos de los elementos todavía no se conocen.

El sodio, el potasio, el cloro, el azufre, el yodo, el manganeso, el molibdeno, el cromo y el cobalto van a ser discutidos en este capítulo. El calcio, el cobre, el magnesio, el fósforo, el selenio, el flúor, el zinc, el hierro y el cadmio se presentan separadamente.

Sodio:

En los tejidos de los mamíferos el sodio está involucrado en el mantenimiento del equilibrio osmótico y del pH de los fluidos orgánicos y ayuda a transmitir el impulso nervioso. Por medio de un mecanismo de "bombeo" que requiere energía, el sodio es removido del espacio intracelular hacia el extracelular. Esta distribución es esencial para el metabolismo celular normal. El efecto de la mala nutrición severa en la función de esta "bomba" y las reprensiones metabólicas consecutivas han sido revisadas por J. Metcalf et al. (*Medicine* 45, 331 (1966)). La depauperación severa de sodio resulta, en último término, en falla en el crecimiento y muerte.

Los requerimientos de sodio son función de las necesidades de crecimiento, las pérdidas por el sudor y otras secreciones corporales y el contenido de potasio en la dieta. En los Estados

Unidos de Norte América el promedio estimado de ingesta de sodio es de 3 a 7 gramos (7.5 a 18 gramos de sal común) por persona (*Recommended Dietary Allowances, Sixth Edition*. NAS-NRC publicación 1146, Washington D.C., 1964). Se ha sugerido una ingesta de 1 gramo de sal por cada litro de agua perdida en exceso de 4 litros. Sin embargo, se ha demostrado que un individuo aclimatizado puede perder únicamente 0.5 gramos por litro de sudor, mientras que una persona no aclimatizada pierde de 2 a 3 gramos por litro. Individuos adultos toleran una ingesta de 2 a 4 miliequivalentes por día por períodos largos de tiempo, siempre que no existan pérdidas anormales.

El sodio se absorbe rápidamente del estómago y del intestino delgado. La administración parenteral en combinación con otros electrolitos y azúcar es una técnica terapéutica útil, ampliamente aplicada ahora en una variedad de enfermedades quirúrgicas y médicas. El órgano responsable por la máxima excreción y conservación de sodio es el riñón. Aproximadamente 99.5% del sodio filtrado por el glomérulo se reabsorbe. La conservación de un evento complejo, controlado en parte por la renina, la angiotensina, y el sistema de la aldosterona, en respuesta a cambios en el volumen plasmático y la perfusión arterial efectiva del aparato yuxtaglomerular (J.O. Davis, C.C.J. Carpenter, y C.R. Ayers, *Circulation Res.* 11, 171 (1962); J.J. Brown, D.L. Davis, A.F. Lever y J.I.S. Robertson, *Lancet* 2, 278 (1963)). Además de la reabsorción del sodio a nivel del túbulo distal, que es mediada por la aldosterona, hay un mecanismo en el túbulo proximal, no completamente comprendido, que parece estar influenciado por el volumen de líquido extracelular (F.C. Rector, Jr., G. Van Giesen, F. Kiil, y D.W. Seldin, *J. Clin. Invest.* 43, 341 (1964)).

La aldosterona también aumenta la conservación del sodio por el sudor y las glándulas salivares y aumenta la absorción intestinal de este catión. El hueso no parece jugar un papel importante en el mantenimiento de la homeóstasis de sodio.

El clínico frecuentemente encuentra condiciones de hiponatremia. La significación de este hallazgo depende de la enfermedad, estado de hidratación, ingesta dietética de sodio y uso previo de agentes diuréticos. Las interrelaciones complejas de estos factores han sido ampliamente revisadas por R.E. Fuisz (*Medicine* 42, 149 (1963)).

El efecto del exceso crónico de sodio dietético en la función cardiovascular y en la evolución de la hipertensión ha recibido atención considerable (D.M. Hilkner, N.S. Wenkman, e I.J. Lichten, *J. Nutrition* 87, 371 (1965)). Se ha sugerido que la ingestión excesiva de sal por niños lactantes consumiendo una dieta de tipo "occidental" puede desempeñar cierto papel en la evolución de la hipertensión en adultos. En vista de esto, es de interés un informe que documenta las grandes cantidades de sodio (40 a 60 miliequivalentes por día) en dietas de niños lactantes en los Estados Unidos (*Nutrition Reviews* 25, 82 (1967)). En la rata, el exceso dietético de sodio produce hipertensión asociada con enfermedad vascular degenerativa que afecta las arteriolas y los glomérulos. El aumento en la ingesta de potasio tiene un efecto protector (G.R. Meneely, J. Lemley-Stone, y W.J. Darby, *Am. J. Cardiol.* 8, 527 (1961)). La susceptibilidad a la "hipertensión salina" es en parte genéticamente determinada. Ciertas líneas genéticas de ratas son altamente resistentes.

Los efectos del exceso crónico de sal en el hombre están menos bien definidos. Los hallazgos de L.K. Dahl, M.G. Smilay, L. Silver y S. Spraragen (*Circulation Res.* 10, 313 (1962)) de que en pacientes hipertensos el sodio-22 tiene una vida media biológica prolongada, sugiere la presencia de un mayor pozo fisiológico de sodio, lo cual constituye evidencia en favor de que el exceso de ingesta de sal es un factor en la etiología de la hipertensión humana. Intoxicación aguda por sal en infantes ha sido descrita por L. Finberg y C.N. Luttrell (*J. Am. Med. Assn.* 184, 187 (1963)).

La restricción dietética de sodio constituye un pilar fundamental en el tratamiento de la hipertensión y de la insuficiencia cardíaca congestiva. El uso exitoso de dietas bajas en sal requiere la educación del paciente y existen varias publicaciones para este propósito (*Sodium Restricted Diets: The Rationale Complications and Practical Aspects of Their Use*. NAS-NRC publicación 325, Washington, 1954; American Heart Association Booklets, *Strict Sodium Restriction*, EM 58; *Moderate Sodium Restriction*, EM 58A and *Mild Sodium Restriction*, EM 58B, American Heart Association, New York, 1960).

Potasio:

El potasio es primordialmente un catión intracelular. Su localización se mantiene por un mecanismo relacionado a la "bomba" de sodio, que requiere energía. En esta localización el catión está, en gran parte ligado a proteínas, influye en el equilibrio osmótico y es en parte responsable del potencial de reposo a través de las membranas y facilita una variedad de reacciones enzimáticas que incluyen la fosforilación de la creatina y las reacciones que involucran a la quinasa del piruvato. Participa en la captación de los aminoácidos neutros por la célula (T.R. Riggs, L.M. Walker, y H.N. Christensen, *J. Biol. Chem.* 233, 1479 (1958)) e influye en el metabolismo de los carbohidratos en el animal intacto. En la rata, la privación prolongada de potasio resulta en hipertrofia de las glándulas suprarrenales, hiperglicemia post-prandial y agotamiento de las reservas de glucógeno tisular. La captación de glucosa por la célula requiere el paso de potasio extra celular hacia adentro de la célula junto con la glucosa.

El riñón es la vía de mayor excreción de potasio. En estado de salud, el cuerpo conserva eficientemente este catión; la deficiencia dietética es, por lo tanto, poco probable. La depauperación de potasio puede ser una complicación importante en casos de diarrea, vómitos, administración de diuréticos, hiperaldosteronismo, defectos tuburales renales, enfermedad crónica pulmonar con alcalosis, acidosis diabética y desnutrición proteico-calórica severa. La rapidez de la depauperación y la proporción de potasio intracelular a extracelular, determina, en parte, los signos y síntomas.

Por ejemplo, los trazos electrocardiográficos en acidosis diabética pueden ser consistentes con hiperkalemia aunque exista hipokalemia en el suero y una deficiencia total de potasio corporal. Las implicaciones terapéuticas de este hecho han sido discutidas por K.H. Stenzel, J.C. Dougherty, L. Sherr, y D.G. Lubash (*J. Am. Med. Assn.* 187, 372 (1964)). No es rara la depauperación de potasio en pacientes con cirrosis del hígado. Una complicación de deficiencia de potasio puede ser la precipitación de coma hepático, presumiblemente debido a un aumento en la producción renal de amoníaco (G.J. Gabuzda y P.W. Hall, *Medicine* 45, 481 (1966)).

Otra complicación de la deficiencia de potasio en la rata es un aumento en la susceptibilidad a infecciones renales. La infección experimental puede ser producida antes de que aparezcan lesiones histológicas causadas por la deficiencia (R.C. Muehreke y J.C. McMillan, *Ann. Int. Med.* 59, 427 (1963)). El aumento en la producción de amoníaco por el riñón deficiente en potasio y la alcalinidad en las pirámides renales pueden ser responsables de este hecho.

Si el sodio también se restringe, la deficiencia de potasio en el hombre resulta en retención de sodio, y alcalosis e hipokalemia moderadas. La alcalosis y la hipokalemia son más severas si se aumenta la de sodio. La corrección de la alcalosis requiere también la corrección de la deficiencia asociada de cloruro. Esto puede ser logrado con cloruro de sodio aunque la deficiencia de potasio continúe. La conservación de potasio por el túbulo renal parece requerir la presencia de cloruro; por esta razón el cloruro de potasio es más efectivo que las sales alcalinas de potasio en la corrección de la deficiencia de potasio (J. de Graeff, A. Struyvenberg y L.D.F. Lameijer,

Am. J. Med. 37, 778 (1964); J.P. Kassiver y W.B. Schwartz, *Ibid.* 40, 19 (1966)). El potasio y el magnesio se encuentran íntimamente relacionados en el metabolismo. La deficiencia de magnesio en la rata lleva a una falla en la retención de potasio; observaciones similares han sido hechas en el hombre (I. MacIntyre, S. Hanna, C.C. Booth, y A.E. Read, *Clin. Sci.* 20, 297 (1961); V.P. Petersen, *Acta Med. Scandinav.* 174, 595 (1963)).

El exceso crónico de potasio produce hipertrofia de la zona glomerulosa de las glándulas suprarrenales en la rata sin que se afecte la granulación del aparato yuxtaglomerular. De esta manera se produce una forma de aldosteronismo secundario independiente de la renina y del sistema de angiotensina (P.M. Hartroft y E. Sowa, *J. Nutrition* 82, 439 (1964)).

En el hombre, el exceso de potasio es raramente un problema excepto en la insuficiencia renal y en la acidosis severa. La hiperkalemia puede ser tratada por restricción de potasio, remoción del potasio por resinas de intercambio sódico a nivel gastrointestinal, corrección de la acidosis y administración de glucosa e insulina. Ocasionalmente, la hemodiálisis extracorpórea se hace necesaria.

Se recomienda al lector las siguientes referencias para obtener datos más amplios sobre el potasio en medicina clínica: B.H. Scribner y J.M. Burnell (*Metabolism* 5, 468 (1955)) y D.C. Darrow y S. Hellestein (*Physiol. Rev.* 38, 114 (1958)).

Cloro:

Casi todo el cloro de la dieta se encuentra como cloruro de sodio. La deficiencia, por lo tanto, ocurre bajo las mismas circunstancias a las descritas para la deficiencia de sodio.

Aproximadamente 2/3 de los aniones sanguíneos son cloruro, 88% siendo extracelular. El líquido cerebro-espinal contiene la mayor concentración, seguido por el líquido intersticial, linfa, transudados serosos, exudados y secreciones gastrointestinales. El cloro extracelular es un anión libre desde el punto de vista práctico ya que tiene una afinidad para ligarse a la albúmina sérica solamente una cuarta parte de la que presenta el yodo y una vigésima parte de la del tiocianato. El mantenimiento de la localización extracelular del cloro parece estar mediado por un sistema de transporte activo; sin embargo, la importancia fisiológica del mantenimiento de las concentraciones intracelulares al nivel de un miliequivalente por litro o menos (en el músculo de ratas) no es conocida.

Una función importante del cloro en el cuerpo es su acción tampón. La contribución del cloro eritrocítico a la actividad tampón total es de aproximadamente 5% en alcalosis metabólica, 10% en acidosis metabólica, 30% en acidosis respiratoria y 40% en alcalosis respiratoria.

La homeóstasis del cloro y la homeóstasis del potasio se encuentran íntimamente relacionadas: una deficiencia de uno acarrea la deficiencia del otro.

Azufre:

El azufre es un nutriente esencial tanto para los animales como para las plantas. Las plantas utilizan el sulfato inorgánico para sintetizar compuestos orgánicos de azufre que son consumidos por los animales. Los animales más diferenciados requieren la presencia de únicamente tres de estos compuestos en la dieta: metionina, tiamina y biotina. Generalmente, la mayor fuente de azufre en la dieta humana es la cisteína. La mayor parte de este azufre se utiliza para sintetizar sulfomucopolisacáridos. Otros compuestos que contienen azufre incluyen cistina, glutatona,

coenzima-A, ácido lipoico y taurina. Las diversas sulfa-drogas, la penicilina y el tiouracilo, son ejemplos de agentes farmacológicos que contienen azufre.

El azufre inorgánico se absorbe pobremente. Hasta hace poco se había considerado poco importante en la nutrición de los animales superiores. El uso de sulfato de calcio y metionina marcados con azufre 35 ha permitido a F.G. Michels y J.T. Smith (*J. Nutrition* 87, 217 (1965)) demostrar que el azufre inorgánico es importante en la dieta de la rata. El sulfato inorgánico contribuye al pozo fisiológico de sulfato al igual que el azufre proveniente de compuestos orgánicos. La disponibilidad del sulfato en los procesos de absorción depende de la razón de azufre orgánico a inorgánico. La absorción de metionina es influenciada por el nivel de sulfato inorgánico en la dieta.

Las funciones de los compuestos con azufre son numerosas. En el tejido conectivo, la disminución del sulfato dietético afecta la actividad productora de colágeno por los fibroblastos, e *in vitro*, la formación de gel por soluciones solubles de colágeno (R.G. Brown, G.M. Button y J.T. Smith, *J. Nutrition* 87, 228 (1965)). Los sulfomucopolisacáridos afectados son los sulfatos de condroitina.

Los sulfatos de condroitina parecen ser sintetizados en el cartílago inmediatamente antes de la osificación (D.D. Dziwiatkowski, F. Bronner, N. DiFerrante y G. Okinaka, *J. Exp. Med.* 106, 509 (1957)). Esta síntesis, es influenciada en parte, por una hormona que no es de origen hipofisiario: el "factor de sulfación". El papel de este factor en la regulación del crecimiento está siendo investigado actualmente (W.D. Salmon, Jr., *J. Lab. Clin. Med.* 56, 673 (1960)). La malnutrición severa y las deficiencias de vitaminas A y C, de hormona de crecimiento y de tiroxina, impiden la síntesis de sulfato de condroitina. Las anomalías congénitas que afectan el metabolismo del tejido conectivo, tales como los síndromes de Hurler y de Morquio (V.A. McKusick *et al.*, *Medicine* 44, 445 (1965)), resultan en la excreción urinaria de sulfomucopolisacáridos.

Otros polisacáridos sulfatados incluyen los sulfatos de mucoitina y la heparina. Los primeros parecen funcionar como lubricantes en el intestino. La heparina se sintetiza en los mastocitos, inhibe la coagulación y su inyección induce la aparición en el plasma de un factor de aclaramiento lípido.

Los compuestos azufrados probablemente más extensamente estudiados son la cisteína, la cistina, la metionina y la taurina. La metionina reemplaza a la cisteína y a la cistina en la dieta. Juega un papel central en la transferencia de grupos metilo.

La cistina parece jugar una función específica en el metabolismo muscular, para la cual no puede ser sustituida por la metionina. M.L. Scott y C.C. Calvert (*Abstracts of the Fifth International Congress of Nutrition*, p. 77. Washington, D.C., 1960) encontraron que la cistina agregada a una dieta deficiente en vitamina E y pobre en metionina y cistina podía prevenir la distrofia muscular en polluelos, mientras que la metionina no la previene.

Yodo:

Desde 1850 se sabe que el bocio endémico y el cretinismo ocurren en regiones en donde el yodo ambiental es escaso. Numerosos observadores han documentado la relación entre la falta de yodo y el bocio endémico. Por consiguiente, el enriquecimiento de la sal con yodo ha sido un método aceptado para la eliminación de esta enfermedad. Aunque existe cierto desacuerdo, parece que cualquier nivel de enriquecimiento entre 1 parte en 10,000 y 1 parte en 100,000 es efectivo,

siempre que el contenido de yodo no disminuya durante el almacenamiento de la sal. La recomendación diaria para prevenir el bocio en adultos es entre 100 y 150 microgramos.

Los alimentos ricos en yodo vienen del mar. Las algas marinas concentran grandes cantidades del halógeno (700,000 microgramos por ciento) y han sido usadas desde la antigüedad para tratar el bocio. Paradójicamente las personas que ingieren grandes cantidades de estas algas pueden mostrar bocio endémico debido a exceso de yodo (H. Suzuki *et al.*, *Acta Endocrinológica* 50, 161 (1965)). Las plantas terrestres y los productos animales no son buenas fuentes de yodo dietético.

R.H. Follis, Jr. (*Am. J. Trop. Med. Hyg.* 13, 137 (1964)) encontró que la eliminación urinaria de yodo era un método útil para valorar rápidamente la magnitud de la deficiencia de yodo en encuestas de poblaciones. Excreciones de yodo por debajo de 50 miligramos por gramo de creatinina urinaria son consideradas indicativas de una ingesta dietética inadecuada y una elevada incidencia de bocio. Esta relación, probablemente no es tan sencilla. Otros factores ambientales, dietéticos (bociógenos) y genéticos juegan sin duda un papel. Este concepto ha sido examinado experimentalmente en la rata por L. Jirousek y D.I.R. Reisenaur (*Endokrinologie* 41, 343 (1961); *Endocrinología Experimentalis*, 1, 271 (1964)). Se encontró que el agrandamiento tiroideo era resultado de la interacción de estos tres factores.

Estudios en un pueblo mexicano demostraron que el 93% de los niños y el 75% de los adultos tenían bocio. La ingesta dietética de yodo de 10 de los niños se encontró entre 34 y 128 microgramos por día con una mediana de 55 microgramos por día. Estas cantidades de yodo eran similares a las ingeridas por individuos sin bocio en un área rica en yodo (Bethesda, Maryland), la cual era de 64 microgramos por día. Los niños mexicanos mostraban un balance marcadamente positivo de yodo y una excreción urinaria baja, en contraste con los niños de Bethesda.

En un poblado de Kentucky en donde la incidencia de bocio es 33% (W.T. London, D.A. Koutras, A. Pressman y R.L. Vought, *J. Clin. Endocrinol.* 25, 1091 (1965)) la ingesta de yodo en individuos bociosos y no bociosos era similar y dentro de los niveles de individuos no bociosos de Bethesda. La excreción promedio de yodo urinario de los individuos bociosos no era significativamente diferente de la de los no bociosos. Las excreciones de yodo eran mayores que los límites normales propuestos por Follis. Los individuos bociosos mostraron un aumento en la presa del yodo estable, sin un aumento en el yodo sérico ligado a proteína, sugiriendo que el yodo atrapado en la tiroides no era convertido a hormona tiroidea. Estos estudios indican que, aunque la deficiencia de yodo es la causa principal del bocio endémico existen otros factores contribuyentes.

Algunos de estos muchos factores que interfieren con la presa del yodo en la tiroides han sido revisados por R.R. Grayson (*Am. J. Med.* 34, 397 (1960)). El mecanismo exacto por el cual la glándula tiroides acumula yodo no se conoce. L.W. Cunningham (*Biochemistry* 3, 1629 (1964)) ha sugerido un mecanismo de transporte activo en el cual los grupos sulfhidrilo forman un complejo con el yodo para formar un yoduro de sulfenil. Esta sugerencia ayuda a explicar la acción anti-tiroidea del tiouracilo y de la tiourea ya que estos compuestos tienen altas velocidades de reacción con el yoduro de sulfenil, con el cual pueden formar compuestos disulfurados y bloquear el mecanismo de transporte activo de yodo en la tiroides.

Se ha postulado que la deficiencia de yodo contribuye en una serie de condiciones patológicas. Se ha establecido una relación entre cretinismo y el bocio endémico cuando estos coexisten; sin embargo, no se ha establecido una interrelación entre la deficiencia de yodo y el cretinismo esporádico, la sordomudez y el retraso mental. Esta última condición parece ser debida a un defecto genético en la incorporación del yodo inorgánico a forma orgánica (M.E. Morgans y W.R. Trotter,

Lancet 1, 607 (1958)). Hasta el momento no existe un criterio unificado sobre la posible relación entre el bocio endémico y el carcinoma del tiroides, ni entre aquel y la tirotoxicosis. Se ha postulado que la deficiencia de yodo resulta en falla en el crecimiento y en retardo en el desarrollo mental, pero estas relaciones han sido poco estudiadas.

Manganeso:

El papel del manganeso en nutrición humana es poco claro. No se ha observado deficiencia de este mineral en el hombre y sus requerimientos han sido establecidos en base a estudios en animales.

La deficiencia experimental de manganeso en la rata y otras especies se manifiesta por retardo en crecimiento, anomalías estructurales y químicas del hueso, ataxia, esterilidad en la hembra, impotencia en el macho y anomalías en el metabolismo de los lípidos. Como resultado de la supresión de la proliferación celular del cartílago epifisario, de la disminución de la formación de la matriz ósea y de la falla del crecimiento del hueso endocondral, resultan huesos arqueados, fracturas, deformidades articulares y luxaciones de los tendones. La condrodistrofia en polluelos y la perosis en aves adultas son ejemplos notorios de la deficiencia experimental de manganeso y de la importancia de este mineral en el metabolismo del hueso, donde aparentemente influye sobre la síntesis de mucopolisacáridos.

Se han observado ataxia irreversible y fenómenos convulsivos en polluelos, ratas, cobayos y cerdos, recién nacidos de madres deficientes en manganeso. Ocurren igualmente defectos en la estructura del aparato vestibular. Las convulsiones se creen debidas a anomalías metabólicas todavía no bien caracterizadas en la corteza cerebral. Permanece aún oscura la relación de estas observaciones con los hallazgos de que la suplementación con manganeso previene la ataxia y la pérdida del reflejo de verticalización en una variedad de ratas que presentan genéticamente esta anomalía (L. Hurley, L. Erway y A. Fraser, (*Fed. Proc.* 25, 432 (1966)).

La deficiencia de manganeso resulta en infertilidad en una variedad de especies y en baja producción de leche en cerdos y en ganado. Estas manifestaciones pueden estar relacionadas a interacciones no bien conocidas entre la colina y el manganeso y a un efecto lipotrópico de este elemento.

In vitro, el manganeso divalente activa muchas de las mismas enzimas que el magnesio (por ejemplo, deoxiribonucleasa, fosfatasas, arginasa, exopeptidasas, dipeptidasa, desulfhidrasa de la cisteína). La aplicación de esta información a sistemas *in vivo* talvez no se justifica ya que el manganeso *in vivo* tiene una valencia de +3.

La absorción de manganeso se encuentra aumentada en la deficiencia de hierro. Esto parece indicar que el mecanismo de la absorción de hierro y de manganeso son similares (S. Pollack *et al.*, *J. Clin. Invest.* 44, 1470 (1965)). El manganeso absorbido, con valencia +2, se oxida a manganeso de valencia +3 y se liga a una beta-1-globulina específica de transporte llamada transmanganina. Los tejidos ricos en mitocondrias toman el manganeso y lo concentran. Su función parece ser específica y relacionada a la fosforilación oxidativa; el manganeso intra y extracelular se encuentran en un equilibrio dinámico; otros metales no desplazan al manganeso de su localización intracelular. La concentración del manganeso en la sangre total es de 2.4 ± 0.8 microgramos por 100 ml. (determinada por activación de neutrones) la mitad del cual es extracelular. Su conservación es eficiente porque la vía biliar es la ruta de mayor excreción pero la mayoría de lo que se excreta en la bilis es reabsorbido.

Los requerimientos humanos diarios de manganeso no se conocen. Los factores que se cree influyen su absorción y retención incluyen la cantidad y disponibilidad de este mineral en la dieta, la masa corporal libre de grasa y el metabolismo basal. La retención de manganeso en un grupo de hombres mantenidos en una dieta vegetariana era de 0.04 miligramos por kilogramo de peso cuando la dieta contenía 7.07 miligramos (V.M. Lang, B.B. North, y L.M. Morse, *J. Nutrition* 85, 132 (1965)). La retención en niños de nueve años se encontró de 0.05 miligramos por kilogramo de peso. Niños de dos años retenían 0.2 miligramos por kilogramo al recibir una dieta que proveía 3.2 miligramos por día (*Nutrition Reviews* 23, 236 (1965)). La dieta occidental contiene aproximadamente 4 miligramos por día, lo que parece ser una cantidad adecuada.

Los alimentos particularmente ricos en manganeso son los "materiales genéticos" de plantas (semillas y nueces). La remoción de las capas externas de los granos en el proceso de la molienda resulta en la pérdida de la mayor parte del manganeso. Los productos animales no son fuentes ricas de manganeso.

La intoxicación por manganeso en el hombre (por ejemplo en mineros) es primordialmente un peligro industrial y es típicamente un proceso crónico. Las manifestaciones incluyen debilidad, desordenes sicológicos y dificultades motoras extrapiramidales, piramidales y cerebelosas. Ocurren lesiones patológicas en los ganglios basales, lóbulos frontales y cerebelo. El tratamiento por medio de agentes queladores ha logrado éxito variable (S.A. El Naby y M. Hassanein, *J. Neurol, Neurosurg., Psychiat.* 28, 282 (1965)).

Molibdeno:

Se considera que el hombre requiere molibdeno ya que este catión se encuentra en la oxidasa de la xantina y en ciertas flavoproteínas. La cantidad requerida probablemente es mínima ya que ha sido demostrado que la administración de apenas 0.2 microgramos por día a ratas logra un crecimiento adecuado y una actividad normal de oxidasa de la xantina. Síntomas de deficiencia y falla en crecimiento han sido producidos en el polluelo.

Las interrelaciones metabólicas entre el molibdeno, el cobre y el azufre han recibido atención considerable. En la naturaleza, la interrelación entre molibdeno y cobre se observó por primera vez, en el ganado que se alimentaba de pastos ricos en molibdeno. Estos animales desarrollaron signos y síntomas compatibles con deficiencia de cobre, los cuales desaparecían con la administración de este metal. Aparentemente, el molibdeno y el cobre compiten por los mismos sitios metabólicos. Como resultado del exceso de molibdeno, el contenido de cobre en la sangre y en la orina aumentan mientras que la secreción biliar e intestinal contienen menos cobre. Las concentraciones de cobre en el parénquima renal y el hígado aumentan. El ganado desarrolla diarrea, acromotriquia, huesos frágiles y pérdida de peso. Las anomalías del hueso se caracterizan por hiperplasia cartilaginosa y disminución de la actividad osteoblástica, bastante similar al osteolatrismo.

La adición de sulfato a una dieta rica en molibdeno previene parcialmente los signos de intoxicación al aumentar la excreción de molibdeno pero la cantidad de sulfato es importante ya que cantidades excesivas producen un aumento en los signos de toxicidad.

Los efectos del exceso de cobre en el metabolismo de molibdeno han sido menos estudiados. Se conoce que la actividad de la reductasa del nitrato en la *Neurospora crassa* se encuentra disminuía. Dicho efecto es contrarrestado por el molibdeno.

Las deficiencias de metales traza en plantas son un posible factor etiológico en la incidencia del carcinoma esofágico en las mujeres Bantú de Sud Africa (R.J.W. Burrell, W.A. Roach y A.

Shadwell, J. *Nat. Cancer Inst.* 36, 201 (1966)). Las deficiencias de minerales traza, particularmente de molibdeno, en el maíz y otras plantas, permite el crecimiento de ciertos hongos en las mismas. Estos hongos (por ejemplo *Aspergillus flavus*) producen micotoxinas que son carcinogénicas para la rata. Además pueden acumularse nitrosaminas carcinogénicas en las plantas deficientes en molibdeno. Estos estudios ilustran la complejidad extrema de la ecología de las enfermedades nutricionales.

Cromio:

La importancia metabólica del cromio en el hombre era desconocida hasta antes de las recientes investigaciones sobre el posible papel del cromio trivalente en la diabetes mellitus. En 1959, el cromio trivalente se encontró necesario para la tolerancia normal de la rata a la glucosa. Estudios subsiguientes mostraron que cantidades mínimas (0.1 microgramo) aumentaban la presa de glucosa por el tejido adiposo del epidídimo de rata *in vitro* en un 90% en presencia de una milunidad de insulina, y que la D-galactosa, que es un azúcar no utilizable, se comportaba de una manera similar a la glucosa. En la diabetes mellitus humana, la tolerancia a la glucosa mejoró en tres de 6 pacientes como consecuencia del tratamiento con 180 a 3,000 microgramos diarios por 15 a 133 días. Los individuos normales no eran afectados por tratamientos similares. Otras investigaciones han dado resultados similares (*ver Nutrition Reviews* 25, 49 (1967)).

Deficiencia de cromio trivalente aparentemente puede ocurrir en la malnutrición proteico-calórica severa. La utilización anormal de glucosa que ocurre en kwashiorkor se corrige temporalmente por la administración de 250 microgramos de cromio trivalente. Estos estudios indican que el cromio trivalente parece ser un factor de tolerancia de glucosa para el hombre al igual que para la rata. No es un agente hipoglicémico pero aumenta la efectividad de la insulina, talvez formando un complejo terciario entre grupos sulfhidrilo de la molécula de insulina y la membrana celular (*Nutrition Reviews*, loc. cit.).

La ingesta diaria usual de cromio varía de 30 a 80 microgramos; muy poco se absorbe y retiene. Los requerimientos diarios no se conocen. Se encuentra distribuido entre los órganos del cuerpo de manera aparentemente uniforme en concentraciones de aproximadamente 0.02 a 0.64 partes por millón de tejido húmedo. La nucleoproteína hepática de res contiene 1.80 partes por millón. En esta localización se cree que juegue un papel en el mantenimiento de la configuración de la molécula del ácido ribonucleico por medio de la formación de uniones covalentes. (W.E.C. Wacker y B.L. Vallee, *Fed. Proc.* 18, 345 (1959)). La observación de Tipton (*Metal Binding in Medicine*, M.J. Daven y L.A. Johnson, Editores, p. 27. Lippincott, Philadelphia, 1960) de que el cromio corporal disminuye con la edad parece ser de interés. Talvez esta tendencia puede estar relacionada en alguna forma con el aumento de la incidencia de diabetes y de enfermedad vascular degenerativa en adultos humanos.

Cobalto:

Las necesidades humanas de cobalto parece estar en su totalidad relacionada a su presencia en la molécula en la vitamina B₁₂. Hasta el momento actual no existe evidencia que sugiera que este catión tiene otras funciones en el metabolismo humano.

En la naturaleza se presenta un ciclo de cobalto. Este mineral es obtenido del suelo por las plantas. Los rumiantes ingieren estas plantas y el cobalto contenido en ellas es utilizado por las bacterias del rumen para manufacturar vitamina B₁₂. El animal absorbe esta vitamina y la distribuye por todo el cuerpo. Las mayores concentraciones se encuentran en el hígado (50 a

100 microgramos por ciento en el hígado de res), mientras que el músculo contiene de 2 a 8 microgramos por ciento y pequeñas, pero significativas cantidades se presentan en la leche. La carne y los productos animales son ingeridos por el hombre y otros animales no rumiantes. Un factor segregado por la mucosa gástrica facilita la absorción de vitamina B₁₂ (absorción máxima en el ileon). La falla de producción del factor intrínseco (anemia perniciosa) así como ciertos estados post-quirúrgicos y otras anomalías gastro intestinales (gastrectomía, resección del ileon, asas intestinales ciegas y divertículos) pueden interferir con su absorción. Los requerimientos diarios de vitamina B₁₂ son muy pequeños (aproximadamente 1 microgramo por día). Por lo tanto, la deficiencia primaria nutricional es extremadamente rara excepto en sujetos que no ingieren productos animales.

Las funciones bioquímicas de la vitamina B₁₂ no se conocen en su totalidad. Juega un papel en el metabolismo de los ácidos nucleicos, carbohidratos y grasas. Una discusión de estas funciones fue publicado en *Medicine* (43, 615 (1964)).

El cobalto tiene la misma función en el hombre que en otras especies animales. Los rumiantes pueden desarrollar deficiencia de vitamina B₁₂ cuando se alimentan de pastos de bajo contenido de cobalto. Los animales monogástricos (cerdos, ratas, pollos) que son mantenidos con una ración puramente vegetal desarrollan deficiencia de vitamina B₁₂ si se previene la coprofagia.

Las sales de cobalto en cantidades de aproximadamente 1 miligramo por día por kilogramo inducen policitemia en muchas especies animales. El mecanismo de este fenómeno es todavía desconocido. Se ha tomado ventaja de la estimulación eritropoyética de esta dosis de cobalto en el tratamiento de la anemia debida a uremia, infección y enfermedad de células falsiformes. Los efectos secundarios incluyen el bocio y el hipertiroidismo. E. Pimental-Malaussena, M. Roche y M. Layrisse (*J. Am. Med. Assn.* 167, 1719 (1958)) han usado el efecto anti-tiroideo del cobalto en el tratamiento experimental de la tirototoxicosis. Cuatro de ocho pacientes no respondieron a la droga. El uso de las sales de cobalto en el tratamiento de la anemia involucra ciertos riesgos, y de ser empleado, debe de supervisarse muy cuidadosamente al paciente.

Ha sido sugerido que el cobalto aumenta la eficiencia de utilización del hierro. Esta acción aparente puede ser debida a su efecto policitémico. El uso de cobalto en el tratamiento de la deficiencia de hierro definitivamente no está justificado ya que las dosis farmacológicas de las sales de cobalto tienen efectos secundarios significativos y la anemia ferropriva responde bien a la administración de hierro únicamente.

CAPITULO XXIX

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE EL HIERRO Y EL COBRE

James C. Peden, Jr., M.D.

El hierro es un elemento esencial para el mantenimiento de la vida. Es necesario para la producción de hemoglobina, de mioglobina muscular, y de ciertas enzimas esenciales. El cuerpo del adulto normal contiene aproximadamente de 3 a 5 gramos de hierro-55 a 60% en la hemoglobina, 30 a 35% en formas de almacenamiento, y el resto en varios componentes tisulares y enzimas.

El hierro es retenido tenazmente por el cuerpo, y lo que es liberado en el proceso de destrucción de hemoglobina entra de nuevo en el pozo metabólico y es re-utilizado en gran escala para síntesis de más hemoglobina. Así pues las necesidades de hierro del organismo normalmente son sólo aquellas necesarias para reponer la pequeña cantidad que se pierde en la orina (menos de 0.1 mg. por día), las heces (0.3 a 0.5 mg. por día), por el sudor y la exfoliación de las células de la piel (estas cifras todavía son motivo de controversia). La pérdida de hierro por estas vías suma un total de aproximadamente 0.5 a 1.0 mg. por día.

Bajo ciertas circunstancias normales, la pérdida de hierro por el organismo aumenta. Durante la vida menstrual de las mujeres se requiere una cantidad adicional de 0.3 a 1.0 mg. por día para compensar el hierro de la hemoglobina que se pierde en la sangre menstrual. "El Costo" de reservas de hierro durante el embarazo y la lactancia, puede variar desde 0 a 2 mg. por día. Las necesidades de hierro también aumentan en los niños durante la fase de crecimiento. Este incremento varía con la edad, pero el promedio es de aproximadamente 0.6 mg. por día durante el período comprendido desde el nacimiento hasta el cese del crecimiento.

Los requerimientos de hierro pueden ser resumidos en la siguiente forma: adultos hombres, y mujeres post-menopáusicas: 0.5 a 1 mg. por día; mujeres menstruantes, 1 a 2 mg. por día; embarazadas, 1.5 a 2.5 mg. por día; niños, un promedio de 1 mg. por día; niñas de 12 a 15 años de edad, 1 a 2.5 mg. por día (C.V. Moore, en *Iron Metabolism*, F. Gross, Editor, p. 251. Springer-Verlag, Berlin (1964)). A estas necesidades hay que agregar el hierro necesario para reemplazar cualquier pérdida anormal de sangre.

Ordinariamente, las necesidades mencionadas deben ser satisfechas por el hierro de la dieta. Ciertos alimentos como la carne, y en particular el hígado, los riñones, y los vegetales verdes son ricos en hierro. Sin embargo, la "disponibilidad" del hierro para la absorción intestinal varía considerablemente de un alimento a otro y ha sido determinado sólo para unos pocos alimentos. Es generalmente cierto que la absorción de hierro de los alimentos no es tan eficiente como la absorción de las sales inorgánicas de hierro que se administran en forma terapéutica. De una dieta promedio se absorbe aproximadamente entre el 5 y el 10% del hierro de los alimentos. Esta absorción está aumentada en los sujetos con deficiencia de hierro, y puede variar con alteraciones en la composición de la dieta (*Nutrition Reviews* 22, 306 (1964)). El porcentaje de hierro absorbido de la carne, del hígado, y del pan enriquecido, es mucho mayor que aquel absorbido de

los huevos o de los vegetales verdes (Moore, *loc. cit.*, p. 243). Una fuente importante de hierro en la dieta, pero que generalmente pasa inadvertida es el hierro que se encuentra en algunas fuentes de agua, vinos y en cervezas y aquel que se incorpora a los comestibles durante el cocimiento de los mismos en recipientes de hierro.

El contenido real de hierro de la dieta de los diferentes pueblos no se conoce con precisión. La mayor parte de la información ha sido obtenida de encuestas dietéticas pero no por análisis directo de los alimentos ingeridos. El contenido de hierro de la dieta de un sujeto urbano promedio de los Estados Unidos ha sido estimado entre 16 y 18 mg. por día. En algunas otras partes del mundo y en grupos de escasos ingresos económicos el contenido de hierro en sus respectivas dietas puede ser significativamente menor.

Si se asume que el 10% del hierro de la dieta se absorbe, está claro que las fuentes dietéticas de hierro en los Estados Unidos van a ser adecuadas para la mujer post-menopáusica, el varón adulto y para la mayoría de los niños. Es también obvio que algunas mujeres durante su vida menstrual, embarazo y adolescencia puedan requerir suplementos de hierro para mantener en forma adecuada las reservas de hierro en su organismo.

Es conocido el hecho de que las sales ferrosas inorgánicas son mucho más fácilmente absorbidas que las correspondientes sales férricas. También se sabe que la máxima absorción de hierro ocurre en el intestino delgado superior, y que la mayor acidez en el contenido intestinal a este nivel es muy importante para mantener el hierro de la dieta disponible para una absorción adecuada. En los últimos años se han cultivado y producido alimentos en un ambiente conteniendo sales de hierro marcadas con material radioactivo, y los estudios de absorción utilizando estos alimentos radioactivos en lugar de las simples sales inorgánicas de hierro han dado información sorprendente. Por ejemplo, la absorción de hierro incorporado al pan no es deficiente ya sea que se use sulfato ferroso o hierro en la forma de ortofosfato férrico o de pirofosfato férrico (R. Steinkamp, R. Duback, y Moore, *Arch. Int. Med.* 95, 181 (1955)).

El efecto del jugo gástrico en la absorción del hierro de la dieta no está bien clarificado, ya que algunos investigadores informan que no hay efecto de la acloridria en la absorción, y otros presentan resultados completamente opuestos. El número de alimentos que han sido estudiados con estas técnicas es bastante reducido, y la clarificación de los problemas de absorción de hierro dietético necesitan más estudio.

La regulación de la absorción del hierro en el intestino es un asunto bastante complejo que no está completamente elucidado. Se sabe que algunas condiciones y ciertas manipulaciones pueden aumentar de manera notable el porcentaje de hierro absorbido de la dieta. Cuando se administra ácido ascórbico por la vía oral, aumenta la absorción del hierro de la mayoría de los alimentos. El aumento del ritmo de la eritropoyesis asociado a ciertas anemias hemolíticas, hipoxia y algunas otras condiciones similares, incrementan la absorción gastrointestinal de hierro. La disminución de las secreciones intestinales del páncreas por ligadura del conducto, puede también aumentar su absorción, lo mismo que la inanición, el embarazo, la deficiencia de piridoxina, y otras condiciones misceláneas. Más importante aún, la depleción de las reservas de hierro del organismo producen un aumento en la absorción por ciento del hierro de la dieta.

Hasta hace poco, el control de la absorción de hierro, había sido explicado por el "bloqueo de la mucosa", teoría que fue propuesta hace ya algunos años (S. Granick, *Science* 103, 107 (1946)). De acuerdo a esta teoría la absorción del hierro era mediada de manera obligatoria por una proteína "aceptadora" de hierro a nivel de la célula intestinal. Esta proteína es la apoferritina.

El complejo formado por el hierro y la apoferritina se llama ferritina. Bajo condiciones normales la absorción de hierro estaría limitada entonces por la disponibilidad de apoferritina en la célula de la mucosa. Fue postulado que, cuando al haber aumento en las necesidades de hierro, se pierde el potencial oxidativo a nivel del borde terminal de las células de la mucosa, permitiendo que hierro ferroso difunda directamente a través de la célula hacia el plasma, sin que haya mediación del sistema apoferritina-ferritina.

Algunos resultados experimentales recientes han originado objeciones a la teoría del "bloqueo de la mucosa". Principalmente, ha sido señalado que, un pequeño porcentaje del hierro administrado por la vía oral continúa absorbiéndose a pesar de haberle dado al organismo una carga previa, con grandes cantidades de hierro ya sea por vía oral o parenteral. También ha sido demostrado que, en términos absolutos, la absorción de hierro aumenta cuando se aumentan las dosis orales del mismo y que éstas únicamente son limitadas por la toxicidad propia del hierro. Hasta la fecha no ha sido posible demostrar experimentalmente diferencias cuantitativas en los potenciales de oxidación y reducción al nivel de los bordes lumbinales y vasculares de la célula intestinal.

Por estas y otras razones actualmente se cree que el hierro que se encuentra en el lumen intestinal penetra a la célula de la mucosa ya sea en forma iónica o ligado a una sustancia proteica de bajo peso molecular. La entrada de hierro no parece ser un proceso que requiera energía. Ya dentro de la célula, el complejo de hierro se difunde directamente al borde vascular, de donde es transferido a través de la membrana celular al plasma por un proceso que sí requiere energía oxidativa y que parece ser la reacción limitante (E.B. Dowdle, D. Schachter, y H. Schenker, *Am. J. Physiol.* 198, 609 (1960)). El hierro que no es rápidamente transportado al plasma se acumularía en la célula formando el compuesto llamado ferritina al unirse a la apoferritina. En este sistema la apoferritina y la ferritina ya no son considerados intermediarios obligatorios en la absorción normal de hierro.

El hierro es transportado en el plasma sanguíneo ligado a una proteína llamada transferrina o siderofilina. Esta proteína se sintetiza en el hígado y está normalmente presente en el plasma en una concentración suficiente para ligar 280 a 400 μg de hierro por 100 ml de plasma. Esta capacidad del plasma para ligar hierro está aumentada cuando existe deficiencia de hierro, durante el embarazo, y en estados de hipoxia, y está disminuida en presencia de ciertas reacciones inflamatorias e infecciones. Puede también estar disminuida en estados de deficiencia proteica severa.

El hierro es removido del plasma con una vida media de 60 a 120 minutos tanto hacía los precursores de la serie eritroide de la médula ósea como a los complejos de almacenamiento. La magnitud del recambio total de hierro en el organismo es alrededor de 25 a 40 miligramos por día. La depuración del hierro plasmático está aumentada en la deficiencia de hierro y cuando hay una aceleración de la eritropoyesis, y está reducida en la fase de hipoplasia eritroide de la médula ósea. Bajo circunstancias normales de actividad eritropoyética, hasta un 90% del hierro absorbido que ha pasado a través del compartimento plasmático entrará a la médula ósea, y aproximadamente un 70% de éste se incorporará a la hemoglobina de los eritrocitos circulantes dentro de un período de 7 a 10 días. El mecanismo exacto de la incorporación de hierro a la hemoglobina todavía permanece sin elucidarse.

Cuando se presenta deficiencia de hierro en el hombre adulto y en la mujer post-menopáusica a pesar de una dieta adecuada, dicha deficiencia es esencialmente siempre el resultado de pérdidas anormales de sangre. En los Estados Unidos, al menos, la deficiencia de hierro es raras veces puramente de origen nutricional. En casos de mala absorción intestinal crónica de varios

años de duración como en esteatorrea, puede presentarse deficiencia nutricional secundaria de hierro. La deficiencia de este nutriente es más comúnmente observada en mujeres durante la vida reproductiva, debido a las pérdidas de sangre por menstruación y a que el embarazo y la lactancia aumentan las demandas sobrepasando el potencial de dietas marginalmente adecuadas para satisfacer estas necesidades adicionales. En otras sociedades la deficiencia de hierro de origen nutricional puede persistir desde la niñez hasta la edad adulta.

En ciertas condiciones patológicas las reservas de hierro en el organismo están vastamente aumentadas. Depósitos anormales de hierro pueden ser observados en muchas partes del organismo. Esta condición puede ser el resultado de una continuada y sistemática ingestión de cantidades excesivas de hierro, tal como sucede en la hemosiderosis por transfusiones o a través de la dieta, como en el caso de la hemosiderosis de los africanos de la tribu Bantú. En la hemocromatosis, los depósitos aumentados de hierro están asociados con cirrosis hepática, con fibrosis del páncreas, y con ciertos trastornos endocrinos. Esta enfermedad parece ser hereditaria, pero se han presentado argumentos impresionantes de que es únicamente "secundaria a condiciones o enfermedades en las cuales está alterado el metabolismo del hierro" (R.A. MacDonald, *Prog. Hematol.* 5, 324 (1966)). La lesión bioquímica fundamental que permite que el hierro se acumule en el organismo en exceso de lo requerido, y la patogénesis de la esclerosis de diversos órganos que se presenta en esta condición, permanecen aún sin clarificar.

La importancia del cobre en nutrición humana es incierta. Deficiencias clínicas aparentes de cobre han sido raramente reportadas; de allí que los requerimientos dietéticos humanos para el cobre no sean conocidos. En un pequeño grupo de niños lactantes desnutridos, quienes aparentemente desarrollaron deficiencia de cobre se pudo estimar que el requerimiento diario de cobre para estos niños en crecimiento rápido era aproximadamente de 42 a 135 microgramos por kilogramo de peso. (*Nutrition Reviews* 23, 164 (1965)).

Se sabe que la dieta promedio de los Estados Unidos contiene de 2 a 5 miligramos de hierro (G.E. Cartwright y M.M. Wintrobe, *Am. J. Clin. Nutrition* 14, 224 (1964)). De los cuales el adulto absorbe de 0.6 a 1.6 miligramos. Estudios hechos con cobre radioactivo administrado por vía oral han demostrado que el cobre absorbido aparece rápidamente en el plasma ligado débilmente a la albúmina, alcanzando una concentración máxima dos horas después. Los niveles de cobre sérico sufren entonces una pequeña caída seguida de una segunda subida que ocurre aproximadamente a las 24 horas estando el cobre en esta fase, unido fuertemente a la ceruloplasmina, la proteína plasmática específica que liga el cobre. Después de un tiempo de equilibrio, hasta un 90% de la dosis de cobre administrada por vía oral puede ser encontrada en el hígado. Los niveles normales de cobre sérico caen entre 90 y 150 microgramos por 100 ml y aproximadamente el 90% está ligado a la ceruloplasmina.

Se estima que el cobre total del organismo suma alrededor de 80 miligramos y está contenido en varias proteínas presentes en muchos tejidos. Algunas de estas proteínas tienen actividades enzimáticas conocidas, tales como la oxidasa del citocromo C, oxidasa del ascorbato, tirosinasa y otras. Sin embargo, éstas representan únicamente una pequeña porción del cobre total de los tejidos. La mayor parte del cobre tisular se encuentra unido a proteína sin actividad enzimática conocida.

Las funciones biológicas del cobre en el organismo no son bien conocidas. En cerdos, la deficiencia de cobre producida experimentalmente resulta en anemia (M.E. Lahey *et al.*, *Blood* 7, 1053 (1952); C.J. Gluber *et al.*, *Ibid.* 7, 1075 (1952)). Las enzimas que contienen cobre se encuentran frecuentemente en los sistemas biológicos que juegan un papel importante en las reacciones de transferencia de carga.

El exceso de cobre parece ser tóxico. En animales experimentales el cobre inyectado directamente dentro del espacio subaracnoideo resulta en tipos específicos de convulsiones. En los seres humanos, se ha demostrado que el ión cobre interfiere con ciertos sistemas enzimáticos, principalmente la adenosinatrifosfatasa de la membrana y el sistema oxidativo del ácido lipóico-piruvato.

Una condición patológica bien conocida en el hombre y caracterizada por excesivos depósitos de cobre, es la degeneración hepatolenticular o enfermedad de Wilson. Esta enfermedad se caracteriza por una forma de degeneración neurológica, Cirrosis hepática, la presencia de anillos de pigmentación en la córnea. Los depósitos totales de cobre en el organismo están muy aumentados en la enfermedad de Wilson. Sin embargo los niveles de cobre plasmático están disminuídos, lo cual ha demostrado ser debido a la reducción de los niveles de cobre ligado a la ceruloplasmina. La mayor parte del cobre que se encuentra circulando en el plasma está unido débilmente a proteínas no específicas, y es por consiguiente mucho más lábil, difundiendo libremente a los tejidos. En la enfermedad de Wilson se observaron también excreciones elevadas de cobre en la orina.

Se ha postulado que el defecto primario en la enfermedad de Wilson sea una falla del hígado para remover del plasma el cobre ligado a la albúmina e incorporarlo a la ceruloplasmina. Se cree que éste sea un defecto genético que resulta en la ausencia de un sistema enzimática específico en el hígado. Al presente la enfermedad de Wilson se trata con agentes quelantes con la intención de ligar al cobre libre y facilitar así su excreción fuera del organismo. Se ha sugerido que el control dietético de la ingestión de cobre podría también ser de algún valor (*Nutrition Reviews* 23, 301 (1965)).

CAPITULO XXX

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE EL FLUOR

James H. Shaw, Ph. D.

Recientemente se han logrado grandes adelantos en el conocimiento de la relación entre el consumo de flúor y la salud humana, así como en la aplicación de este conocimiento. Varios aspectos del problema han ocupado el centro de atención en diferentes épocas: 1) El reconocimiento, en 1931, de que la ingestión excesiva de fluoruro durante el período de desarrollo del diente causaba esmalte moteado; 2) la demostración por medio de encuestas limitadas en los Estados Unidos, en la última parte de la década de 1930, de que una ingestión óptima de fluoruro agregado al agua potable durante la época del desarrollo y maduración del diente, resultaba en notable reducción en la prevalencia de caries dental en niños; 3) la demostración de este mismo efecto en gran escala, tanto en los Estados Unidos como en muchos otros países, bajo una variedad de condiciones raciales, económicas y dietéticas, y de que el beneficio del fluoruro se extendía hasta el adulto; 4) la obtención de evidencia conclusiva, tanto de estudios de laboratorio como de encuestas epidemiológicas y estadísticas de mortalidad, de que la ingestión de fluoruro a niveles óptimos para asegurar una baja prevalencia de caries, no era dañina en ninguna forma para el organismo humano, ni causaba el estéticamente indeseable esmalte moteado; 5) los ensayos del agregado de fluoruro a las fuentes comunales de agua (fluoración) para determinar si el mismo efecto beneficioso podría ser obtenido por medio de la fortificación del agua potable; 6) la adopción creciente del proceso de fluoración en los Estados Unidos y en muchos otros países, como un procedimiento de Salud Pública barato, inocuo y altamente efectivo para la reducción de una de las enfermedades crónicas más costosas y prevalentes.

Al presente cerca de 60,000,000 de individuos en los Estados Unidos reciben agua potable fluorada bajo condiciones controladas. Aunque ya no de actualidad, la más reciente encuesta mundial efectuada por la Federation Dentaire Internationale en 1963, indicó que la fluoración controlada estaba siendo efectuada o planificada en ese momento en 41 países.

Los beneficios de la fluoración del agua potable han sido notablemente demostrados en los E.E. U.U., Canadá, el Reino Unido y Japón. Los 3 proyectos pioneros de fluoración comenzaron en Brantford, Ontario; Newburgh, N.Y. y Grand Rapids, Michigan en el verano de 1945 y han estado en operación, a la fecha, por 21 años. Los datos recientes disponibles obtenidos de estos estudios dan resultados comparables. En este artículo solamente se resumirán los resultados del último estudio en Brantford en 1963 (H.K. Brown y P. Poplove, *J. Canad. Dent. Assn.* 31, 505, (1965)).

Los datos correspondientes a los individuos de 16 a 17 años de edad son de especial interés ya que éstos habían ingerido fluoruro a niveles óptimos por toda su vida. El promedio de dientes cariados, obturados y perdidos (CPO) en esta población fue 4.74 ± 0.18 . En Stratford una ciudad con agua que naturalmente tiene un contenido alto de fluoruro, y la cual sirvió de control durante el estudio, el mismo grupo de edad tenía 4.19 ± 0.21 de CPO. En Sarnia, la ciudad control con

bajo contenido de fluoruro en el agua potable, este valor fue 10.44 ± 0.22 . La diferencia entre los valores encontrados en Sarnia y en Brantford fue altamente significativa, mientras que la diferencia entre Brantford y Stratford no fue significativa. Para el mismo grupo de edad, los porcentajes de individuos libres de caries fueron 0.41, 11.80, y 21.78 para Sarnia, Brantford y Stratford respectivamente. Estudios muy similares se han obtenido en un número considerable de otras comunidades.

Otros dos índices de la efectividad de la fluoración del agua, o sea el CPO y el porcentaje de niños libres de caries, han sido compilados por D.B. Ast, N.C. Cons, J.P. Carlos y A. Maiwald (*Am. J. Pub. Health* 55, 811 (1965)) en términos del tiempo de ocupación de silla dental y del costo de proveer cuidado dental periódico para los niños en el área de Newburgh, N.Y. con fluoración, comparada con el área de Kingston, N.Y., donde no había fluoración. El tiempo promedio de ocupación de silla dental por niño en minutos necesario para proporcionar el cuidado dental completo previo a la entrada a la escuela fue 76.9 en Newburgh y 117.3 en Kingston. Los costos fueron \$14.16 y \$32.38 respectivamente. El tiempo promedio de ocupación de silla dental en términos de incremento anual, después de la rehabilitación inicial fue 25.6 minutos por niño en Newburgh y 35.9 minutos por niño en Kingston. Los costos promedio por año fueron: \$5.90 y \$11.00 respectivamente. Estos valores reflejan muy claramente los beneficios derivados de la fluoración del agua, en tal forma que deben ser más fácilmente entendidos por dentistas, padres de familia, trabajadores de Salud Pública o autoridades municipales, que las cifras de prevalencia de caries dental.

El consumo parcial de agua fluorada a niveles óptimos durante las horas escolares por niños que beben agua baja en fluoruro en sus casas, ha sido repetidamente demostrado como factor efectivo en la reducción significativa de la prevalencia de caries dental (J.A. Yacovone y V.F. Lisanti, *Arch. Oral. Biol.* 1, 265 (1960); *North-West Dent.* 40, 244 (1961); W.A. Jordan, *Ibid.* 41, 186, 243 (1962); W.E. Creighton, J. Savage y D.M. Witter, *Pub. Health Rep.* 79, 778 (1964)). A pesar de que estas reducciones no fueron tan grandes como las obtenidas cuando el agua fluorada se consume tanto en la escuela como en la casa, los beneficios fueron indudablemente apreciables. Se han presentado además muchas oportunidades para hacer este tipo de observación en escuelas consolidadas donde los niños del pueblo consumían agua fluorada todo el tiempo, mientras que los niños de las áreas rurales que asistían a la misma escuela consumían agua baja en fluoruro en sus casas.

Se han llevado a cabo estudios sobre las ventajas del consumo de agua fluorada con altos niveles de fluoruro durante las horas escolares en áreas donde el agua potable tiene bajo contenido de este elemento. H.S. Horowitz, S.B. Heifetz y F.E. Law (*J. Am. Dent. Assn.* 71, 1124 (1965)). describieron estudios hechos bajo condiciones diseñadas específicamente para aumentar los beneficios del consumo de fluoruro por parte del tiempo en Pike County, Kentucky y Elk Lake, Pennsylvania, donde el agua potable no era generalmente fluorada.

En Pike County la temperatura media máxima diaria es 70.3°F. En base a esta temperatura el nivel óptimo de fluoruro agregado al sistema de agua potable usado exclusivamente en la casa y en la escuela sería de 0.9 p.p.m. Sin embargo, en vista de que la fluoración iba a ser solamente por parte del tiempo durante los días escolares el nivel de fluoración se estableció en 3.0 p.p.m. En Elk Lake la temperatura media máxima diaria es 55.9°F y el nivel óptimo de fluoración, asumiendo consumo continuo es de 1.1 p.p.m. En este caso la fuente de agua en la escuela se fluorizó al nivel de 5.0 p.p.m.

La prevalencia de caries en niños de varios grupos de edad fue evaluada por cuatro años en Elk Lake y por 5 años en Pike County. Se observaron reducciones apreciables, promediando 24.5%

bajo contenido de fluoruro en el agua potable, este valor fue 10.44 ± 0.22 . La diferencia entre los valores encontrados en Sarnia y en Brantford fue altamente significativa, mientras que la diferencia entre Brantford y Stratford no fue significativa. Para el mismo grupo de edad, los porcentajes de individuos libres de caries fueron 0.41, 11.80, y 21.78 para Sarnia, Brantford y Stratford respectivamente. Estudios muy similares se han obtenido en un número considerable de otras comunidades.

Otros dos índices de la efectividad de la fluoración del agua, o sea el CPO y el porcentaje de niños libres de caries, han sido compilados por D.B. Ast, N.C. Cons, J.P. Carlos y A. Maiwald (*Am. J. Pub. Health* 55, 811 (1965)) en términos del tiempo de ocupación de silla dental y del costo de proveer cuidado dental periódico para los niños en el área de Newburgh, N.Y. con fluoración, comparada con el área de Kingston, N.Y., donde no había fluoración. El tiempo promedio de ocupación de silla dental por niño en minutos necesario para proporcionar el cuidado dental completo previo a la entrada a la escuela fue 76.9 en Newburgh y 117.3 en Kingston. Los costos fueron \$14.16 y \$32.38 respectivamente. El tiempo promedio de ocupación de silla dental en términos de incremento anual, después de la rehabilitación inicial fue 25.6 minutos por niño en Newburgh y 35.9 minutos por niño en Kingston. Los costos promedio por año fueron: \$5.90 y \$11.00 respectivamente. Estos valores reflejan muy claramente los beneficios derivados de la fluoración del agua, en tal forma que deben ser más fácilmente entendidos por dentistas, padres de familia, trabajadores de Salud Pública o autoridades municipales, que las cifras de prevalencia de caries dental.

El consumo parcial de agua fluorada a niveles óptimos durante las horas escolares por niños que beben agua baja en fluoruro en sus casas, ha sido repetidamente demostrado como factor efectivo en la reducción significativa de la prevalencia de caries dental (J.A. Yacovone y V.F. Lisanti, *Arch. Oral. Biol.* 1, 265 (1960); *North-West Dent.* 40, 244 (1961); W.A. Jordan, *Ibid.* 41, 186, 243 (1962); W.E. Creighton, J. Savage y D.M. Witter, *Pub. Health Rep.* 79, 778 (1964)). A pesar de que estas reducciones no fueron tan grandes como las obtenidas cuando el agua fluorada se consume tanto en la escuela como en la casa, los beneficios fueron indudablemente apreciables. Se han presentado además muchas oportunidades para hacer este tipo de observación en escuelas consolidadas donde los niños del pueblo consumían agua fluorada todo el tiempo, mientras que los niños de las áreas rurales que asistían a la misma escuela consumían agua baja en fluoruro en sus casas.

Se han llevado a cabo estudios sobre las ventajas del consumo de agua fluorada con altos niveles de fluoruro durante las horas escolares en áreas donde el agua potable tiene bajo contenido de este elemento. H.S. Horowitz, S.B. Heifetz y F.E. Law (*J. Am. Dent. Assn.* 71, 1124 (1965)). describieron estudios hechos bajo condiciones diseñadas específicamente para aumentar los beneficios del consumo de fluoruro por parte del tiempo en Pike County, Kentucky y Elk Lake, Pennsylvania, donde el agua potable no era generalmente fluorada.

En Pike County la temperatura media máxima diaria es 70.3°F. En base a esta temperatura el nivel óptimo de fluoruro agregado al sistema de agua potable usado exclusivamente en la casa y en la escuela sería de 0.9 p.p.m. Sin embargo, en vista de que la fluoración iba a ser solamente por parte del tiempo durante los días escolares el nivel de fluoración se estableció en 3.0 p.p.m. En Elk Lake la temperatura media máxima diaria es 55.9°F y el nivel óptimo de fluoración, asumiendo consumo continuo es de 1.1 p.p.m. En este caso la fuente de agua en la escuela se fluorizó al nivel de 5.0 p.p.m.

La prevalencia de caries en niños de varios grupos de edad fue evaluada por cuatro años en Elk Lake y por 5 años en Pike County. Se observaron reducciones apreciables, promediando 24.5%

en Elk Lake y 28.0% en Pike County para el grupo total de niños entre 6 y 17 años de edad. Las reducciones para los niños de 6 años de edad solamente, fueron de 59.3% y 51.5% respectivamente.

Horowitz, Law y T. Pritzker (*Pub. Health Rep.* 80, 381 (1965)) hicieron un estudio similar en una escuela de la Isla St. Thomas, Virgin Islands, donde la temperatura máxima media diaria es 84.7°F y el valor calculado de fluoruro para producir beneficios óptimos asumiendo una sola fuente de agua es 0.7 p.p.m. La fluoración del agua al nivel de 2.3 p.p.m. por 6 años resultó en un CPO de 2.47 en 279 niños escolares entre el segundo y el séptimo grado, en contraste con un valor de 3.21 para 601 niños controles. Este descenso fue significativo al nivel del 1%. Este procedimiento puede probar ser una forma de resolver el serio problema de los millones de individuos que viven en casas con agua potable obtenida de pozos privados y que no recibirían afectados los beneficios de un programa de fluoración del agua potable comunal.

A menudo se ha hecho la pregunta, particularmente en los primeros años de fluoración, de si este tratamiento resulta en otros beneficios además de la reducción en la prevalencia de caries. En el transcurso del tiempo se ha acumulado información a este respecto. En 3 estudios, en Evanston, Ill., Newburgh, N.Y., y High Point, North Carolina, diferentes grupos de investigadores informaron menos maloclusión después de 10 años o más de fluoración la que caracterizaba a esas comunidades antes de la fluoración o a comunidades vecinas usadas como control (I.N. Hill, J.R. Blayney y W. Wolf, *J. Dent. Res.* 38, 782 (1959); D.B. Ast, N. Allaway y H.L. Draker, *Am. J. Orth* 48, 106 (1962); D.M. Erickson y F.W. Graziano, *J. Am. Dent. Assn.* 73, 124 (1966)).

En estos 3 estudios se usaron diferentes métodos, de manera que los resultados no son estrictamente comparables. El método de expresión usado en Newburgh es particularmente fácil de entender. En este estudio 9.4% de los niños fueron considerados en situación de desventaja física debido a problemas de maloclusión, mientras que la cifra en la comunidad de Kingston que no recibió tratamiento con fluoruro fue de 22.5%. Los autores especulan sobre si una más alta pérdida de los primeros molares permanentes en el grupo control no fluorado, pueda haber sido la causa de la más alta prevalencia de maloclusión.

Estudios muy similares fueron descritos en un estudio en el Japón en el cual la fluoración fue mantenida por 11 años al nivel de 0.6 p.p.m. (G. Minoguchi, *Bull. Stomat.* 4, 45 (1964)). El nivel de fluoración del agua en este programa fue bajo debido al contenido de flúor en los alimentos de esta población, el cual es más alto que el típico de los E.E. U.U. Los beneficios observados con respecto a la reducción en el CPO fueron buenos, pero no tan marcados como en estudios hechos en los E.E. U.U. y el Canadá.

Resultados beneficiosos con relación al periodontio también han sido descritos. H.R. Englander y C.L. White (*Abstracts of the Forty-first General Meeting, International Association for Dental Research*, #262 1963)) compararon la higiene periodontal y oral de 1200 residentes permanentes de Aurora (1.2 p.p.m. de fluoruro natural) con 870 residentes similares de Rockford (0.01 p.p.m. de fluoruro natural). El grupo de edad fue de 13 a 17 años. La materia alba, los cálculos y la frecuencia de uso del cepillo de dientes fueron comparables en los 2 grupos. Sin embargo, el índice periodontal fue ligeramente más bajo en Aurora donde también se encontró una mayor proporción de individuos sin signos de enfermedad oral.

El grupo de edad de 18-65 años también fue estudiado en esta investigación (Englander, R.G. Kesel y O.P. Gupta (*Abstracts of the Fortieth General Meeting, International Association for Dental Research* #122 (1962)). Se compararon 906 residentes nativos de raza blanca en Aurora con 950 en Rockford. La enfermedad periodontal fue uniformemente más severa en la comunidad

con bajo fluoruro (Rockford) que en Aurora en la cual el agua contiene un nivel óptimo de fluoruro. El índice periodontal promedio de 0.69 en Aurora contra 1.10 en Rockford, diferencia altamente significativa. En efecto, esta diferencia es más de 8 veces el error estándar de la diferencia entre promedios. Expresado de otra manera, 41% del grupo en Rockford presentó severas lesiones periodontales en comparación con 24% en Aurora.

A.L. Russell (*Am. J. Pub. Health* 47, 688 (1957)) comparó la prevalencia de enfermedad periodontal en Newburgh y Kingston, New York, Colorado Springs y Boulder, Colorado, y Bartlett y Cameron, Texas. En cada una de las 3 comparaciones, los individuos en las comunidades con fluoruro presentaron un poco menos enfermedad periodontal que en las comunidades con bajo fluoruro. El autor hizo notar particularmente la falta de evidencia de un aumento en enfermedad periodontal en las comunidades con fluoruro, aumento que había sido predicho por los oponentes de los programas de fluoración.

A través de los años se han hecho demostraciones repetidas de la inocuidad de la ingestión de fluoruro a los niveles recomendados. Posiblemente la más convincente de estas demostraciones fue la comparación entre habitantes de Bartlett, donde el agua potable contiene 8.0 p.p.m. de fluoruro, con habitantes de Camerón cuya agua potable contiene 0.4 p.p.m. (*ver Nutrition Reviews* 16, 117 (1958)). Dos encuestas epidemiológicas fueron llevadas a cabo, una en 1943 y la otra en 1953. No se encontraron diferencias significativas entre los hallazgos clínicos en las dos comunidades, excepto por una prevalencia ligeramente mayor de anomalías cardiovasculares en Camerón y por supuesto, una más alta prevalencia y severidad de fluorosis dental en Bartlett.

Una encuesta similar fue hecha en Rusia, donde la comunidad con alto fluoruro, Shchuchinsk, tenía una fuente de agua potable que contenía 4 p.p.m. de fluoruro (*V.A. Knizhnikov, Gigiena i Sanitariya* 23 (8), 18 (1958)). Ciento sesenta y nueve individuos de esta comunidad fueron estudiados y comparados con 53 en la comunidad control Kokchetav, donde se usaban varias fuentes de agua potable, variando en su contenido de fluoruro de 0 a 0.9 p.p.m. Los investigadores comentaron particularmente que no se encontraron diferencias en índices que indicaran desórdenes en la salud, tales como rigidez de la espina dorsal, distonía vegetativa, debilidad muscular, anemia, coagulación sanguínea disminuida y urticaria recurrente. Las estadísticas de mortalidad y morbilidad eran más favorables para Shchuchinsk que para Kokchetav. Como era de esperarse, el esmalte moteado fue más prevalente entre los habitantes de Shchuchinsk donde 33% de las personas tenían clase II y III de esmalte moteado no encontrándose sin embargo, ningún individuo con el grado más severo o sea clase IV.

Se han descrito hallazgos de 904 necropsias hechas entre 1947 y 1953 en Colorado Springs, donde el agua potable contiene 2.5 p.p.m. de fluoruro (*ver Nutrition Reviews* 17, 133 (1959)). En este grupo, 334 individuos habían vivido en Colorado Springs por más de 20 años. La evaluación de los hallazgos patológicos no reveló ninguna evidencia de que la exposición prolongada a este contenido de fluoruro había sido perjudicial para ningún sistema orgánico.

Muchas otras investigaciones han sido llevadas a cabo para determinar la relación de la ingesta de fluoruro en forma endémica natural o agregada artificialmente a las fuentes de agua, con el estado de salud. La evidencia, invariablemente conclusiva y bien documentada, indica que la ingestión de fluoruro en forma de agua potable con niveles recomendados ha sido inocua bajo muchas condiciones climáticas o ambientales.

Se han hecho muchos esfuerzos para evaluar el grado de esmalte moteado en comunidades con niveles óptimos de fluoruro en el agua potable. La frecuencia de esmalte moteado incluyendo grados muy livianos y aún dudosos (estéticamente inapreciables) ha sido rutinariamente descrita

entre 8 y 10% en niños que han crecido en estas áreas. Esmalte moteado estéticamente indeseable no ha sido observado en áreas que consumen fluoruro al nivel recomendado. Sin embargo, en el área política, tanto en documentos, como en audiencias públicas, los oponentes de la fluoración han a menudo distorsionado los hechos sobre la prevalencia y severidad del esmalte moteado en comunidades con niveles óptimos de fluoruro en el agua potable.

Información adicional está siendo recabada para establecer aún más firmemente la inocuidad de una fluoración bien conducida. J.R. Forrest y P.M.C. James (Brit. Dent. J. 119, 319 (1965)) tuvieron la oportunidad de conducir un estudio sobre todos los tipos de opacidades del esmalte en un grupo de niños de 8 años de edad que habían crecido ya fuera en una comunidad con fluoración o en una comunidad con inapreciable contenido de fluoruro en el agua. Para el objeto del examen los niños fueron juntados en un solo grupo, de manera que los investigadores pudieron hacer un examen detallado de los dientes de estos niños sin conocer la comunidad de origen de los mismos.

El análisis y compilación de los datos mostró un 36% de los niños del área con fluoruro con opacidades del esmalte de cualquier tipo. De éstos 24% eran opacidades de la variedad idiopática que se presentaban en sitios en donde el esmalte moteado no se desarrolla, o de tal naturaleza que el fluoruro no podía ser considerado como causa. El 12% restante tenían opacidades que podrían haberse considerado, aunque en forma dudosa, como esmalte moteado de muy leve grado. Entre el grupo de niños del área con bajo fluoruro se encontraron 47% con opacidades idiopáticas similares a las que se encontraron en la comunidad con fluoruro en un 24%. Muchas de estas opacidades eran de apariencia más desagradable en la comunidad sin fluoruro.

Estos hallazgos hacen énfasis de nuevo sobre el hecho de que en el esmalte se presentan diferentes tipos de opacidades de variadas etiologías, por lo cual hay necesidad de un diagnóstico diferencial entre estos tipos de lesión. Los beneficios de la fluoración en este estudio fueron revelados por el hecho de que 38.5% de los niños del área con fluoruro estaban libres de caries en comparación con solamente 23.8% en el área baja en fluoruro. Se encontraron los 4 primeros molares permanentes cariados en 12.1% y 27.7% de los niños del área con fluoración y sin fluoración respectivamente.

Datos similares sobre esmalte moteado fueron investigados en 2332 niños de Meosho, Missouri (<0.1 p.p.m. de fluoruro), en Grand Rapids, Michigan (1.0 p.p.m. de fluoruro por fluoración), en Grand Prairie, Texas (1.6 a 2.8 p.p.m. de fluoruro natural), y en Bartlett, Texas (8.0 p.p.m. antes de la implementación de procedimientos para reducir el nivel de fluoruro a niveles óptimos en 1952) (V.I. Diefenbach, G.A. Nevitt y J.M. Frankel, J. Am. Dent. Assn. 771, 1129 (1965)). Estos estudios mostraron que el esmalte moteado no provoca problema estético a niveles óptimos de fluoruro, y que en realidad los dientes presentaban mejor apariencia en comunidades con niveles óptimos de este elemento y aún en comunidades con agua potable que contenía cantidades de fluoruro más altas que las consideradas óptimas. En el estudio de Minoguchi (*loc. cit.*) no se encontró ninguna evidencia de aumento en la frecuencia de dientes hipoplásticos en las áreas con fluoración. Este autor comentó también sobre el problema de las opacidades del esmalte en la comunidad con bajo fluoruro y reconoció la dificultad en diferenciar entre los tipos de opacidad encontrados en ambas comunidades.

Se está progresando constantemente en la comprensión de la relación del fluoruro con el metabolismo óseo (*ver Nutrition Reviews* 19, 198 (1961)). Durante una encuesta clínica sobre el estado de salud de los habitantes de Bartlett (8.0 p.p.m. de fluoruro) y Camerón (0.4 p.p.m. de fluoruro), se incluyeron evaluaciones radiológicas del sistema óseo. No se encontró diferencia

entre las comunidades con respecto a la incidencia de fracturas de los huesos, artritis, cambios hipertróficos del sistema óseo, ni tampoco evidencia de interferencia alguna con la velocidad de cicatrización de fracturas. No se encontraron casos de "lordosis" en ninguna de las dos comunidades.

En 15% de los habitantes de Bartlett se observó un aumento en densidad ósea, con o sin engrosamiento trabecular, así como un engrosamiento del hueso cortical y del periosteo con estrechamiento dudoso de los espacios óseos. Estos cambios fueron leves, a menudo difíciles de reconocer, y en algunos casos equívocos. Se observaron menos casos de osteoporosis en Bartlett que en Camerón lo cual movió a los autores a sugerir que la ingesta de fluoruro "puede, en ocasiones, tener un efecto beneficioso sobre el hueso adulto, tal como contrarrestar los cambios osteoporóticos propios de la edad".

También han sido descritos los hallazgos de un estudio radiológico sobre 546 personas de 30 a 70 años de edad que habían residido por largo tiempo en Framingham, Mass., donde el contenido de fluoruro en el agua potable llega solamente a trazas. Una frecuencia muy alta de osteoporosis fue observada aún en los jóvenes, y especialmente en el sexo masculino. Esta alta prevalencia en comparación con la de Bartlett y Camerón sugiere la posibilidad de que un bajo contenido de fluoruro pueda llegar a ser insuficiente para mantener una adecuada mineralización del esqueleto en la edad media y avanzada.

En un estudio en Texas y Oklahoma se observaron 23 casos de osteosclerosis entre 170,000 exámenes practicados. Estos pacientes no tenían nada en común con excepción de la osteosclerosis revelada radiológicamente. Los autores no pudieron establecer ninguna relación entre la evidencia radiológica y los procesos y síntomas de la enfermedad de que padecían los pacientes. Todos los 23 pacientes habían consumido por toda su vida agua con 4 a 8 p.p.m. de fluoruro. En grupos de población con menos de 4 p.p.m. de fluoruro no se encontró ningún caso de osteosclerosis.

La prevalencia de osteoporosis, densidad ósea reducida, y vértebra colapsada, así como de calcificación de la aorta abdominal, fue estudiada en 5 comunidades en Dakota del Norte (ver *Nutrition Reviews* 25, 100 (1967)). Breves cuestionarios fueron llenados por los pacientes y por el médico. Se tomó además una radiografía de la espina lumbar lateral de cada individuo. Los pueblos con alto fluoruro, Mott y Hettinger, estaban en la parte Suroeste del estado y su agua potable contenía entre 5.5 y 5.8 p.p.m. y entre 4.4 y 4.8 p.p.m. respectivamente. Los pueblos con bajo fluoruro, Grafton, Carrington y New Rockford estaban en la parte Noroeste del estado con niveles de fluoruro en el agua potable entre 0.15 y 0.30 p.p.m.

Un total de 1015 individuos de 45 años o más de edad fueron examinados, 300 en los pueblos con alto fluoruro y 715 en las comunidades con bajo fluoruro. La prevalencia de densidad ósea reducida fue mayor en las comunidades con bajo fluoruro que en las con alto fluoruro para los 3 grupos de edad estudiados, 45 a 54, 55 a 64, y 65 o más años y en ambos sexos. Las diferencias entre las comunidades fueron altamente significativas ($p < 0.01$) en las mujeres de 55 a 64 y de 65 o más años de edad y significativas ($p < 0.05$ en los hombres de 55 a 64 años).

Se comprobó también que más individuos tenían una densidad ósea normal o aumentada en las comunidades con alta ingesta de fluoruro que en aquellas caracterizadas por una baja ingesta de fluoruro. Entre las personas del sexo femenino se notó una prevalencia mayor de vértebras colapsadas en las comunidades con bajo fluoruro que en aquellas con alto fluoruro. Esta tendencia no se observó en el sexo masculino, en quienes se presentó en todas las comunidades una inesperadamente alta prevalencia de este defecto óseo, posiblemente porque la mayoría eran campe-

sinos. Tampoco se observó ninguna diferencia en la frecuencia de osteófitos entre los dos tipos de comunidades.

La historia de enfermedades óseas, terapéutica hormonal previa, anormalidades endócrinas, edad de la menopausia e insuficiencia de las gónadas no fue diferente entre los 2 grupos. Un hallazgo inesperado fue la prevalencia más alta de calcificación aórtica en los individuos de las comunidades con bajo fluoruro. La diferencia fue estadísticamente significativa en los 3 grupos de edad del sexo masculino. La información dietética limitada sobre la ingesta de calcio a juzgar por el consumo de leche y queso indicó que la ingesta de calcio no podía considerarse de significancia etiológica para explicar las diferencias en densidad ósea y en el número de vértebras colapsadas.

Esta encuesta provee la evidencia más convincente de que individuos de edad avanzada en comunidades con bajo fluoruro están en desventaja marcada con respecto a osteoporosis, a juzgar por una densidad ósea disminuida y por la frecuencia de vértebras colapsadas. Además, estas comunidades con bajo fluoruro pueden tener una frecuencia más alta de calcificación de la aorta abdominal. Las áreas con alto fluoruro en esta encuesta tenían niveles de fluoruro bastante más altos que los recomendados como óptimos para lograr una reducción en la deterioración dental al mismo tiempo que una prevalencia mínima de esmalte moteado moderado. Encuestas similares son necesarias en áreas donde el agua potable ha contenido niveles óptimos de fluoruro por períodos prolongados de tiempo, con el objeto de determinar en que grado se han logrado beneficios en cuanto a una disminución en la prevalencia de osteoporosis y de calcificación aórtica.

En años recientes, varios investigadores han estado usando niveles bastante altos de fluoruro como un procedimiento experimental para el tratamiento de enfermedades metabólicas del sistema óseo (M.J. Purves, *Lancet* 2, 118 (1962); D.S. Bernstein et al., *J. Clin. Invest.* 42, 916 (1963); C. Rich, J. Ensinn y P. Ivanovich, *J. Clin. Invest.* 43, 545 (1964); P. Cohen y F.H. Gardner, *New Engl. J. Med.* 271, 1129 (1964); G.A. Rose, *Proc. Roy. Soc. Med.* 58, 436 (1965)). Por medio de estudios de balance se demostró en los primeros 4 de estos estudios que la mayoría de los pacientes con osteoporosis postmenopáusica (senil) y enfermedad de Paget pasaron de balance de calcio negativo a positivo durante la terapia con fluoruro. Además se observó un aumento en la densidad ósea en algunos casos según lo reveló el examen radiológico. Sin embargo, algunos pacientes no respondieron y, en el estudio de Rose, no se observaron efectos beneficiosos.

P. Grøn, H.G. McCann y Bernstein (*J. Bone Joint Surg.* 48-A, 892 (1966)) describieron los resultados del examen de 24 especímenes de cresta ilíaca obtenidos por biopsia de 21 pacientes. En comparación con muestras obtenidas antes del tratamiento con fluoruro, o de pacientes no tratados, las biopsias después de tratamiento mostraron que el contenido de fluoruro había aumentado de 0.087 a 0.35%, el grado de cristalinidad del componente mineral era más deseable ($\text{Beta} = 0.77$ comparado con 0.94), y el contenido de citrato había disminuido de 2.59 a 1.89%.

Numerosos estudios han sido llevados a cabo en años recientes con el objeto de explicar el mecanismo de acción de los fluoruros. Uno de los más interesantes de esos estudios demuestra que los cristales de hidroxapatita del hueso son más grandes y más perfectamente formados cuando el contenido de fluoruro es alto (ver *Nutrition Reviews* 23, 237 (1965)). Estos estudios indicaron que con una ingesta de fluoruro aumentada durante el período de mineralización ósea se logra no solamente un más alto contenido de fluoruro en los cristales del mineral del hueso sino también una "cristalinidad" aumentada debido a alteraciones en el tamaño y perfección del cristal que resultan en una reducción en el área superficial y en solubilidad.

Se ha demostrado que existe un interesante gradiente de concentración de fluoruro en el esmalte (F. Brudevold, D.E. Gardner y F.A. Smith, *J. Dent. Res.* 35, 420 (1956); S. Isaac, Brudevold, Smith y Gardner, *J. Dent. Res.* 37, 318 (1958)). Invariablemente se encontró que la concentración de fluoruro en la superficie del esmalte era cerca de 10 veces mayor que en las capas profundas del mismo, tanto antes como después de la erupción, e independientemente de si el área geográfica era alta o baja en fluoruro. Durante los primeros 10 a 20 años después de la erupción del diente la concentración de fluoruro de la capa superficial del esmalte aumentó significativamente. Se ha demostrado que el fluoruro aumenta la precipitación de cristales de hidroxiapatita en soluciones sobre-saturadas de calcio y fosfatos a un pH entre 6.2 y 7.4 (Brudevold, B.H. Amdur y A. Messer, *Arch. Oral Biol.* 6, 304 (1961)).

En la última década se han llevado a cabo también numerosos estudios sobre la evaluación de la eficacia del fluoruro administrado en otro tipo de vehículo tal como píldoras, grageas, leche, y sal de mesa. B.G. Bibby, E. Wilkins y E. Witol (*Oral Surg., Oral Med., Oral Path.* 8, 213 (1955)) observaron una inhibición del 30% en la aparición de caries después de solamente un año de administrar 1 mg. de fluoruro por día en forma de grageas que se disolvían en la boca antes de tragar; no se observó ningún efecto cuando la misma dosis de fluoruro fue administrada en píldoras. G. Wrzodek (*Zahnarztl. Mitt* 7, 1 (1959)) suministró tabletas de fluoruro a 13,585 niños escolares en Alemania por un período de 4 años y comparó la incidencia de caries en éstos, con 4965 niños que no tomaron las tabletas. Se observó una reducción del 20% en caries en los niños del primero, segundo y tercer grado escolar.

F.A. Arnold, Jr., F.J. McClure, y C.L. White (*Dent. Prog.* 1, 8 (1960)) proveyeron a padres de familia que eran empleados del servicio de Salud Pública con una preparación de fluoruro que inicialmente era en forma de solución y más tarde en forma de tabletas, con el objeto de que se las administraran a sus niños pequeños. La incidencia promedio de caries en los 121 niños que tomaron el suplemento por un período de 2/3 de su vida fue comparable a la incidencia en niños de edades similares que reciben agua potable fluorada. Uno de los hallazgos interesantes fue, que aún entre este grupo de profesionales en el campo de la salud, solamente cerca de la mitad de los padres continuaron dándole a los niños el suplemento de fluoruro por el número de años requerido.

L.L. Rusoff et al. (*Am J. Clin. Nutrition* 11, 94 (1962)) suministró a niños escolares media pinta de leche conteniendo 1 miligramo de fluoruro en forma de fluoruro de sodio como parte del almuerzo escolar, por un período de 3 años y medio. Al final de este período el grupo que recibió fluoruro estaba constituido por 65 niños entre 9 y 12 años de edad. Se observó una reducción de aproximadamente un 70% en caries de los dientes cuya erupción ocurrió después del principio del programa de leche fluorada (primera y segunda bicúspides y segundas molares). Se observó un efecto beneficioso menor sobre los primeros molares los cuales habían aparecido inmediatamente antes del principio de la suplementación.

En Suiza se han hecho esfuerzos intensos en favor del uso de sal de mesa fluorada, con una concentración de 90 p.p.m. (T.M. Marthaler y C. Schenardi, *Helv. Odont. Acta* 6, 1 (1962)). El porcentaje de reducción en caries fue de 41% en las superficies proximales, 32% en las bucolabiales y 21% para las superficies de oclusión, después de 5 años y medio de uso de esta sal fluorada. Este efecto beneficioso fue menor que el observado con agua fluorada, y los autores proponen que el nivel de fluoruro en sal pueda posiblemente ser aumentado de 90 a 200 p.p.m.

La información disponible sobre la administración de fluoruro en formas distintas a su incorporación en el agua potable, indican que es posible obtener resultados beneficiosos cuando se

controla adecuadamente el nivel de ingesta de este elemento. Sin embargo el éxito o fracaso de estos procedimientos alternativos depende a menudo de la fidelidad de los padres al programa que asegure la administración constante del suplemento por el período prolongado de tiempo que se haga necesario.

Durante la última década se ha progresado mucho con respecto al conocimiento científico sobre la relación entre la ingestión de fluoruro y la salud humana, así como sobre la adopción de la suplementación con fluoruro sobre bases mundiales. Con la acumulación de evidencia sobre los beneficios que la fluoración acarrea al hombre, aún más allá de una reducción en caries dental, debería esperarse una más rápida implementación de programas de fluoración, la acumulación de mayor evidencia que demuestre los beneficios de otras formas de fluoración además de la del agua potable, y probablemente la aceptación de niveles de fluoruro más altos para el adulto que los considerados óptimos para niños.

CAPITULO XXXI

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE EL SELENIO

Orville A. Levander, Ph.D.

El selenio es un mineral peculiar, ya que los alimentos naturales pueden contener tanto de este elemento que pueda producir toxicosis o tan poco que resulte en deficiencia. La presencia de cantidades tóxicas de selenio en los alimentos, fue descubierta en 1930 en los Estados Unidos por investigadores que estaban estudiando la condición que en el ganado se conoce como "enfermedad por alcali" ("alkali disease") (I. Rosenfeld y O.A. Beath, *Selenium*, Academic Press, New York, 1964). Se demostró que esta enfermedad era una forma de intoxicación crónica por selenio debida a la ingestión de granos o forrajes con contenidos niveles moderadamente altos de selenio (5 a 40 p.p.m.). Una forma aguda de seleniosis ("blind staggers") fue observada en animales que consumían ciertas especies de plantas que eran capaces de acumular muchos miles de p.p.m. de selenio. En ambos casos, la fuente de selenio eran los suelos en donde crecían estas plantas. Posteriormente cantidades significativas de selenio han sido encontradas en los suelos de muchas regiones de las Montañas Rocosas y de los Grandes Valles en EE. UU.

El problema de Salud Pública que representa la toxicidad del selenio en los productos agrícolas ha sido reducido en Norte América a través de una cuidadosa delineación de las áreas seleníferas potencialmente peligrosas. Desafortunadamente, datos completos sobre la distribución geoquímica del selenio no existen en otros sectores del mundo en donde la intoxicación por selenio parece ser una posibilidad. En Venezuela, por ejemplo, algunas muestras de plantas de diferentes regiones rurales contenían hasta 10 p.p.m. de selenio (W.G. Jaffe, J.F. Chávez y M.C. Mondragón, *Arch. Latinoamericanos Nutrición* 17, 59 (1967)).

En vista de que la concentración de 5 p.p.m. en los alimentos comunes se considera peligrosa, es obvia la necesidad de encuestas minuciosas para investigar la magnitud del problema.

A raíz de los hallazgos iniciales de K. Shwartz y C. Foltz (*J. Biol. Chem.* 233, 245 (1958)) de que trazas de selenio protegen contra la necrosis hepática en ratas alimentadas con dietas a base de levadura de *Torula* y deficientes en vitamina E, han aparecido muchos informes refiriendo efectos biológicos favorables de cantidades pequeñísimas de selenio. Dentro de las muchas alteraciones que han sido tratadas exitosamente con selenio se encuentra, infertilidad, y la enfermedad de músculo blanco en ovejas, enfermedad de músculo blanco en terneros, la hepatosis dietética en puercos y la diatesis exudativa y distrofia muscular en las aves de corral.

A pesar de que la necesidad de selenio tanto para animales de laboratorio como para animales domésticos parece estar bien documentada, no se conoce la enfermedad carencial correspondiente en el hombre. Sin embargo, hay estudios preliminares que sugieren que la deficiencia de selenio puede ser un factor complicante en ciertos tipos de kwashiorkor. Dos niños de Jamaica que padecían de desnutrición proteica y que no aumentaban de peso después de haber pasado la fase aguda inicial, respondieron inmediatamente a la administración suplementaria de 25 µg de selenio diaria-

mente en forma de gama, gama'-di-seleno-di-ácido valérico (Schwarz, *Fed. Proc.* 20, 666 (1961)). A.S. Majaj y L.L. Hopkins, Jr., describieron niños Jordanos con desnutrición en quienes demostraron una respuesta reticulocitaria impresionante, después de la administración diaria de 30 a 50 µg de selenio en forma de selenito de sodio (*Lancet* 2, 592 (1966)). Majaj y Hopkins también citan el trabajo de Viteri, Burke y W.N. Pearson quienes encontraron que los niveles séricos de selenio de niños guatemaltecos con kwashiorkor eran aproximadamente la mitad de lo encontrado en niños normales (*First International Symposium on Selenium in Biomedicine*. AVI Publishing Co., Westport, Connecticut, 1967). La prometedora evidencia de estos estudios iniciales indican la necesidad de más investigación con respecto al papel que juega el selenio en la nutrición humana.

Cualquier intento de establecer requerimientos de selenio deberá tomar en consideración algunas variables, incluyendo aún la forma en que se encuentra el selenio mismo en la dieta. Schwarz constantemente ha enfatizado que 0.007 p.p.m. de selenio como la forma orgánica natural ("Factor 3") es la dosis 50% efectiva para evitar la necrosis hepática en las ratas, mientras que en forma de selenito o selenato inorgánicos se necesitan de 0.02 a 0.03 p.p.m. (*Nutrition Reviews* 18, 193 (1960)). M.C. Neshiem, y M.L. Scott encontraron que era necesario de 0.05 a 0.10 p.p.m. de selenio en forma de selenito de sodio en la dieta de levadura de *Torula*, para prevenir la diátesis exudativa en pollos y pavos. (*Fed. Proc.* 20, 674 (1961)), mientras que J.E. Oldfield, J. R. Schubert y O.H. Muth lograron eliminar la enfermedad de músculo blanco en las ovejas, alimentando a las madres durante el período pre-natal con una dieta de alfalfa-heno-avena que contenía de 0.06 p.p.m. de selenio (*J. Agr. Food. Chem.* 11, 388 (1963)).

Con respecto a la nutrición humana debe señalarse que muchos compuestos orgánicos de selenio son inestables y se pierden fácilmente por calentamiento, de manera que el sobrecocimiento de los alimentos pueda volatilizar el selenio y producir así dietas inadecuadas en este elemento. La pérdida de selenio producida por el calentamiento de granos es bien conocida, pero existen pocos datos sobre el efecto de varios métodos de procesamiento sobre el contenido de selenio en los alimentos. Es posible que bajo ciertas circunstancias, factores que se sabe pueden modificar el metabolismo del selenio, puedan influenciar las necesidades de este elemento por un organismo. La torta de semilla de linaza contrarresta la intoxicación crónica por selenio (A.W. Halverson, C.M. Hendrick y O.E. Olson, *J. Nutrition* 56, 51 (1955)) y puede afectar el balance de selenio en un animal; recientemente se ha demostrado que el arsénico aumenta la excreción biliar de selenio bajo una gran variedad de condiciones (O.A. Levander y C.A. Baumann, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 9, 106 (1966)).

La adición de selenio a los comestibles para animales y humanos debe hacerse con mucha precaución hasta que la controversia que existe actualmente sobre este elemento, como posible carcinogénico, sea esclarecido por completo. El primer informe sobre el selenio como un posible agente en la inducción del cáncer fue el de A.A. Nelson, O.G. Fitzhugh y H.O. Calvery quien alimentó a ratas durante toda su vida con trigos seleníferos y $(\text{KNH}_4\text{S})_5\text{Se}$ y observó adenomas o carcinomas de baja malignidad en 11 de las 53 ratas que sobrevivieron más de 18 meses. (*Cancer Res.* 3, 230 (1943)). Resultados similares fueron obtenidos por L.A. Cherkes, S.G. Aptekar y M.N. Volgarev, quienes alimentaron a las ratas con selenato de sodio y encontraron tumores en 10 de las 23 ratas que sobrevivieron 18 meses (*Biull. Eksp. Biol. Med.* 3, 78 (1962)).

Sin embargo, este trabajo ha sido criticado por D.V. Frost (*World's Poultry Sci. J.* 21, 139 (1965)), y en un estudio bastante completo se involucró casi 1,500 ratas alimentadas con varios niveles de selenito o selenato de sodio durante un período de 3 años y medio. Se llegó a la conclusión de que "ningún neoplasma encontrado pudo atribuirse al selenio" (J.R. Harr et al., *First International Symposium on Selenium in Biomedicine*). A pesar de que esto parece indicar que el

selenito o selenato en la dieta para ratas no es carcinogénico, la posibilidad de que existan formas orgánicas de selenio que produzcan tumores, o de que el selenio produzca tumores en otras especies no puede ser excluida.

La función del selenio en el metabolismo celular continúa siendo un misterio. Las muchas interrelaciones nutricionales entre selenio y la vitamina E, y la ya demostrada actividad de varios compuestos de selenio como antioxidantes efectivos y agentes radioprotectores *in vitro*, constituye la base para la teoría de que la única acción metabólica del selenio es aquella de un antioxidante no específico (A.L. Tappel, *Fed. Proc.* 24, 73 (1965)). Sin embargo, hay un número de deficiencias específicas de vitamina E que no responden al tratamiento con selenio, tal como la esterilidad por resorción en ratas, distrofia muscular en conejos, y la encefalomalacia en pollos y esto ha convencido a otros investigadores de que a pesar de que el selenio actúa como un antioxidante en algunos casos, hay suficiente evidencia para atribuirle además un papel más especializado. I.D. Desai, C.C. Calvert y Scott llevaron a cabo en pollos un estudio de la secuencia en las interrelaciones entre peroxidación, enzimas del lisosoma, y distrofia muscular y concluyeron que el aumento de susceptibilidad de los lípidos musculares a la peroxidación y el aumento de la actividad de enzimas de los lisosomas no son las alteraciones primarias responsables del inicio de la distrofia muscular (*ver Nutrition Reviews* 23, 90 (1965)).

Schwarz ha postulado que la vitamina E y el selenio tienen efectos independientes en vías alternativas del metabolismo intermediario y que esto explica por qué la ausencia de ambos nutrientes es necesaria para desarrollar ciertos estados de deficiencia (*Fed. Proc.* 24, 58 (1965)). El mismo autor también ha presentado trabajos en los cuales indica que la habilidad del selenio, los aminoácidos sulfurados, y el tocoferol para detener el descenso de la actividad respiratoria en cortes de hígado de rata puede ser explicado por el efecto de estas sustancias sobre un sistema enzimático, la oxidasa del alfa-cetoglutarato. El hecho de que el selenio pueda tener un efecto independiente del de la vitamina E también está apoyado por los datos de Neshiem y Scott, quienes demostraron en pollos que estaban ya recibiendo cantidades adecuadas de vitamina E una actividad estimulante del crecimiento producida por el selenio (*Ibid.* 20, 674 (1961)). Finalmente J. Pinsent ha publicado un informe muy interesante de que trazas de selenito y molibdato son esenciales para la producción de la enzima dehidrogenasa fórmica en *Escherichia coli* (*Biochem. J.* 57, 10 (1954)). Este experimento sugiere una función de selenio en la biosíntesis de proteína que puede tener implicaciones importantes en relación a los sistemas en los mamíferos.

CAPITULO XXXII

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE EL PAPEL DEL CINC EN NUTRICION

W. G. Hoekstra, Ph.D.

Hace unos 30 años, el cinc fue reconocido como el elemento esencial para la dieta de los animales de laboratorio y como un componente de la enzima anhidrasa carbónica. Debido a la abundancia del cinc en los alimentos y sustancias alimenticias en relación a los requerimientos de la rata y el ratón, se asumió que dicho elemento se encontraba en la dieta en cantidades suficientemente amplias para cubrir las necesidades del organismo y que, por ende, no era en la práctica un problema nutricional.

Hoy día se ha demostrado que la realidad es completamente diferente. En efecto, en ciertas especies la deficiencia de cinc no es rara, principalmente debido a factores que afectan la disponibilidad del cinc de la dieta.

Se han publicado recientemente revisiones extensas de la literatura sobre el papel del cinc en la nutrición y en el metabolismo (B.L. Valee, *Physiol. Reviews* 39, 443 (1959); *Mineral Metabolism*, C.L. Comar y F. Bronner, Editores, Vol. II, Parte B, p. 443. Academic Press, New York, 1962; E.J. Underwood, *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*, Second Edition, p. 157. Academic Press, New York, 1962; *Zinc Metabolism*, A.S. Prasad, Editor. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, 1966). La deficiencia de cinc fue demostrada sin lugar a duda en ratas y ratones. Los síntomas principales son: crecimiento reducido, piel anormal, despigmentación en las especies de piel oscura, alopecia y descamación, principalmente de la cola. Estudios histológicos más detallados (R.H. Follis, Jr., en *Zinc Metabolism*, p. 129) han señalado como efectos directos de la deficiencia del cinc y no de inanición, la hiperqueratinización y el engrosamiento de la epidermis con pérdida de folículos pilosos y una paraqueratosis extensa del esófago. En la deficiencia severa de cinc en la rata macho joven se ha descrito la esterilidad debido a una atrofia testicular (causada por la deficiencia del cinc *per se*) y un tamaño reducido de los órganos sexuales accesorios (debido a una producción inadecuada de gonadotropina) (M.J. Millar, P.V. Elcoate, M.L. Fisher y C.A. Mawson, *Canad. J. Biochem Physiol.* 38, 1457 (1960)).

Para producir la deficiencia, fue necesario en los trabajos iniciales remover el cinc de los ingredientes dietéticos por medio de procedimientos especiales de purificación que consumían mucho tiempo. La deficiencia severa de cinc puede ser producida, hoy día con dietas semipurificadas teniendo cuidado razonable en la selección de las jaulas y de los ingredientes de la dieta, para reducir al mínimo la contaminación con cinc. Es necesario usar una fuente de proteínas o aminoácidos apropiada (disponible comercialmente), tal como el hidrolizado de caseína libre de sales (el cinc es removido durante la hidrólisis, la neutralización y la remoción de sales), las proteínas aisladas del frijol de soya (en las que el cinc es de baja disponibilidad) o la clara de huevo desecada (muy baja en cinc por naturaleza; exceso de biotina debe de ser usado o bien la avidina destruída). Se ha informado que la deficiencia de cinc se desarrolla en ratones recién nacidos privados del calostro, pero aparentemente estas observaciones no han sido confirmadas.

H.C.H. Kernkamp y E.F. Ferrin (*J. Am. Vet. Med. Assn.* 123, 217 (1953)) describieron una enfermedad en el cerdo caracterizada por dermatitis y crecimiento pobre, que denominaron paraqueratosis (presencia de núcleos celulares o residuos nucleares en las capas más externas de la epidermis), y postularon que era de origen nutricional. La primera evidencia de que el cinc podría ser efectivo en el tratamiento de la paraqueratosis (J.T. Raper y L.V. Curtin en *Proceedings of the Third Conference on Processing as Related to Nutritive Value of Cottonseed Meal*, p. 17. 1953) y que el calcio o el fósforo agravaban esta dermatitis (N.R. Ellis, *Ibid.* p. 16) apareció en una publicación de circulación limitada y no fue suficientemente conclusiva. H.F. Tucker y W.D. Salmon (*ver Nutrition Reviews* 13, 303 (1955)) publicaron evidencia inequívoca de que el cinc curaba dramáticamente o prevenía la paraqueratosis en cerdos y que el suplemento de calcio y fósforo la agravaba. Estas observaciones fueron confirmadas por muchos investigadores, y se ha mostrado que, en cerdos alimentados con dietas prácticas, el calcio pero no el fósforo, es el antagonista del cinc. Los suplementos de fósforo sin calcio moderaron la dermatitis pero no estimularon el crecimiento. A pesar de que ha habido alguna duda sobre si la paraqueratosis es solamente problema nutricional (*ver* I. Mansson, *Acta Vet. Scandinav.* 5, 279, 287, 295, 305 (1964)), la producción de un síndrome similar con dietas semipurificadas bajas en cinc (W.H. Smith, M.P. Plumlee y W.M. Beeson, *J. Animal Sci.* 20, 128 (1961)) es evidencia bastante conclusiva de que la enfermedad producida naturalmente es en realidad una deficiencia del cinc "condicionada" por factores que reducen la disponibilidad del cinc de la dieta.

Poco tiempo después, se encontró que el cinc era responsable, al menos en parte, de la respuesta atribuida a "un factor de crecimiento desconocido" en pollos y pavos alimentados con dietas con proteínas aisladas del frijol de soya (B.L. O'Dell y J.E. Savage, *Poultry Sci.* 36, 459 (1957)). Formas más severas de la deficiencia del cinc fueron posteriormente producidas experimentalmente en pollos, pavos y gallinas (*Nutrition Reviews* 19, 111, 148, 302 (1958); E.W. Kienholz, M.L. Sunde y W. G. Hoekstra; *J. Nutrition* 75, 211 (1961)) y en la codorniz japonesa (M.R. Spivey Fox y B.N. Harrison, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 116, 256 (1964)).

Los síntomas primarios en aves jóvenes después de empollamiento y nacimiento normales son: crecimiento disminuido, plumas encrestadas, hiperqueratosis moderada pero generalmente no severa, respiración dificultosa (no siempre observada) y a menudo una deformidad de la pata caracterizada por la hipertrofia de la articulación del tarso, acortamiento y engrosamiento de los huesos largos y un paso o andado inseguro. Estos cambios son similares a los observados en perosis o artritis. Se han hecho algunas observaciones histopatológicas sobre la deficiencia de cinc en pollos (O'Dell, P.M. Newberne y Savage, *J. Nutrition* 65, 503 (1958); R.J. Young, H.M. Edwards, Jr., y M.B. Gillis, *Poultry Sci.* 37, 1100 (1958)). No todas las dietas bajas en cinc causan la deformidad de las patas en los pollos. Las deformidades en las patas debidas a la deficiencia del cinc provocada con dietas con proteína de soya son un hallazgo consistente.

Sin embargo, cuando se usaron dietas a base de un hidrolizado ácido de caseína libre de sales o bien clara de huevo desecada, en lugar de proteína de soya, se produjo deficiencia severa de cinc pero las deformidades de las patas no se desarrollaron. Por otra parte la deformidad de las patas, pero no el defecto en el crecimiento causado por dietas de proteína de soya de contenido bajo de cinc han sido prevenidas por niveles altos (de 1 a 2%) de histidina, o administrando en la dieta un nivel más bajo (0.2%) de histamina (F.H. Nielsen, M.L. Sunde y Hoekstra, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 48, 521 (1967)). La relación entre la deficiencia del cinc y la histamina todavía no ha sido elucidada o comprendida, pero puede tener implicaciones en el síndrome de la deficiencia del cinc en otras especies.

Gallinas alimentadas con dietas a base de proteína de soya y deficientes en cinc por un período de varios meses no presentan deficiencias obvias; sin embargo, los pollos y los embriones

producidos por estas gallinas muestran defectos pronunciados. Una deficiencia ligera de cinc resulta en la producción de pollos débiles, con manifestaciones de respiración trabajosa que rehusan comer y mueren al primero o segundo día. Una deficiencia más severa produce huevos que no empollan bien y malformaciones en los embriones, principalmente esqueléticas, de las cuales la "chafadura", pequeñez de las extremidades, ausencia de las extremidades, deformidades espinales, y ausencia de desarrollo vertebral son las más comunes. Ausencia o hipertrofia de los ojos, inflamación edematosa de los músculos del cuello y deformidades en el pico son observadas algunas veces, pero el desarrollo visceral es casi siempre normal.

La deficiencia experimental del cinc en ovejas y terneros se caracteriza principalmente por un crecimiento pobre, anorexia, apetito depravado, dermatitis (hiperqueratosis y paraqueratosis con lesiones abiertas de inflamación encima de los cascos) alopecia, inflamación con rigidez de las articulaciones. Han sido reportados síndromes en ganado vacuno atribuidos a una deficiencia del cinc. La incidencia en ruminantes es actualmente desconocida, pero aparentemente no es muy diseminada. La deficiencia de cinc también ha sido producida en perros.

A.S. Prasad y colaboradores (*ver Zinc Metabolism*, p. 250) han implicado la deficiencia del cinc en pacientes humanos en Egipto quienes muestran enanismo, hipogonadismo y hepatoesplenomegalia. Una condición similar observada en Irán también fue considerada como el resultado de una deficiencia del cinc. En comparación con sujetos control, se observó que los enanos tenían una concentración baja de cinc en el suero y una excreción urinaria del cinc también baja; los pacientes también depuraron del plasma ^{65}Zn inyectado más rápidamente y excretaron menos en la orina. Efectos de la suplementación del cinc sin otros cambios dietéticos consecuentes a la hospitalización no fueron descritos. Sin embargo, considerable evidencia fue presentada indicando que la suplementación con cinc estimuló mayor crecimiento que el atribuido simplemente al cambio a la dieta del hospital y a la suplementación con hierro.

Dos pacientes que rehusaron tratamiento y regresaron a sus pueblos no mostraron crecimiento. Además, el cinc promovió el desarrollo del vello público y crecimiento de los genitales y el tamaño del hígado y del bazo decreció usualmente; estos efectos no se observaron durante el mismo período de tiempo con suplementación con hierro ni con el cambio a la dieta del hospital solamente.

Los enanos del Irán practicaban la geofafia, mientras que los enanos de Egipto no lo hacían. La dieta de los enanos de Egipto fue generalmente pan y frijoles (en los cuales el cinc puede ser poco utilizable) y comúnmente padecían de infección por uncinaria. A pesar de que se ha acumulado una cantidad impresionante de evidencia, particularmente del estudio en Egipto, de que tales pacientes son deficientes en cinc, no ha sido claramente mostrado si la causa es la deficiencia de cinc *per se* o si ésta es una anomalía asociada con otros aspectos de la nutrición o con enfermedad metabólica. Además, no se sabe cuán prevalente es esta condición o si una forma más liviana de deficiencia de cinc pueda ser común.

W.H. Strain y colaboradores (*J. Lab. Clin. Med.* 68, 244 (1966)) mostraron bajos niveles de cinc en el cabello de los enanos egipcios y demostraron una respuesta del cinc del cabello a la suplementación dietética con este metal. También encontraron que 6 personas de Rochester N.Y. tenían niveles de cinc en el cabello por debajo de lo "normal" en los meses de invierno, pero no en los meses de verano. Sin embargo, se requiere más investigación para determinar si esto tiene alguna relación con adecuación de ingesta de cinc y si la necesidad de suplementación con cinc está indicada.

La deficiencia de cinc en animales y aparentemente en el hombre, ha sido explicada en su mayor parte por otros factores en la dieta que disminuyen la disponibilidad del cinc. De éstos, el calcio y el fitato han sido los más extensamente estudiados. El efecto agravante del exceso de calcio sobre la deficiencia de cinc ha sido a menudo dramático; aparentemente es más notable en el cerdo; ha sido también demostrado en pollos, gallinas, ratas y perros pero aparentemente no se ha documentado en rumiantes.

El fitato disminuye la disponibilidad del cinc en pollos, cerdos y ratas y una interacción calcio: fitato: cinc ha sido demostrada (H.J.A. Likuski y R.M. Forbes, *J. Nutrition* 85, 230 (1965); D. Oberleas, M.E. Muher y B.L. O'Dell, *J. Nutrition* 90, 56 (1966)). En estos estudios el calcio fue antagonista del cinc únicamente en la presencia de grandes cantidades de fitato. El complejo calcio-fitato aparentemente actuó formando un complejo con el cinc en el tracto intestinal y haciéndolo inabsorbible.

Estudios en ratas usando ^{65}Zn indicaron que, con una dieta natural (conteniendo fitato), el calcio disminuyó la absorción del cinc. Un efecto similar se observó con una dieta semipurificada (libre de fitato) sólo cuando el nivel de fosfato de la dieta era alto (cerca del 1% de P) (D.A. Heth, W.M. Becker y Hoekstra, *J. Nutrition* 88, 331 (1966)). Un concepto razonable aceptado al presente es de que el calcio antagoniza al cinc primariamente en el sitio de su absorción intestinal, pero que tal efecto es observado únicamente cuando un material aniónico tal como el fitato o el fosfato está presente en cantidades relativamente grandes en el intestino combinándose con el calcio y formando un complejo que liga firmemente al cinc.

Tal efecto ha sido mostrado *in vitro* tanto con el fosfato (P.K. Lewis, Jr., R.H. Grummer y Hoekstra, *J. Animal Sci.* 16, 927 (1957)) como con el fitato (C.A. Byrd y G. Matrone, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 119, 347 (1965)). También se ha mostrado que algunos otros complejos de fosfato reducen la disponibilidad del cinc (P.Vohra y F.H. Kratzer, *J. Nutrition* 89, 106 (1966)). Las consideraciones anteriores pueden servir para explicar la observación de que en un experimento con sujetos humanos (H. Spencer, V. Vankinscott, I. Lewin y J. Samachson, *J. Nutrition* 86, 169 (1965)), y en algunos experimentos con animales, el antagonismo del calcio con el cinc no fue observado. El alivio de la paraqueratosis leve en cerdos por administración de cinc o niveles altos de aceite de soya pueden ser el resultado de la formación de jabones de calcio, reduciéndose en consecuencia el antagonismo del calcio hacia el cinc; esta posibilidad aparentemente no ha sido estudiada.

La vitamina D también ha sido descrita como un factor que afecta la disponibilidad del cinc, pero paradójicamente a veces decreciendo y otras veces estimulando la absorción del cinc. Un trabajo reciente (W.M. Becker y Hoekstra, *J. Nutrition* 90, 301 (1966)) indica que la vitamina D probablemente no juega un papel directo en la estimulación de la absorción intestinal del cinc como lo hace el calcio, sino que más bien provoca una deposición mayor de cinc en el hueso que ha sido estimulado a crecer y calcificar. Esto puede indirectamente (por un mecanismo homeostático) incrementar la absorción del cinc. La deficiencia de vitamina D, o su administración en cantidades requeridas o aún en exceso, no ha agravado significativamente o aliviado el síndrome de deficiencia de cinc en cerdos o ratas.

Se ha mostrado que el cadmio es un antagonista del cinc, probablemente porque reemplaza al cinc en sitios importantes del organismo (J. Pařízek, *J. Reprod. Fertil* 1, 294 (1960); S.A. Gunn, T.C. Gould y W.A.D. Anderson *Arch. Path.* 71, 274 (1961); W.C. Supplee, *Science* 139, 119 (1963); *Nutrition Reviews* 19, 340 (1961)). La importancia práctica del antagonismo del cadmio con el cinc en la dieta no ha sido demostrado conclusivamente; sin embargo, la ingestión de niveles bajos de cadmio por períodos prolongados de tiempo han sido implicados por H.A. Schroeder y

colaboradores en la disminución de la longitud de vida de ratas y ratones y en la aparición de varios defectos metabólicos (tales como la hipertensión) en animales de laboratorio y posiblemente en el hombre (ver *Nutrition Reviews* 20, 25 (1962); 21, 340 (1963)). No ha podido demostrarse si tales defectos pueden ser prevenidos incrementando el consumo de cinc.

Debido a que niveles altos de cinc en la dieta causan una deficiencia relativa de cobre podría esperarse que el cobre fuera un antagonista del cinc. Un informe sugiere esta posibilidad (P.J. O'Hara, A.P. Newman y R. Jackson, *Aust. Vet. J.* 36, 225 (1960)), pero la mayoría de los trabajos indican que el cobre o no tiene efecto sobre la deficiencia del cinc, o aún disminuye sus efectos. Esta incierta situación aún no ha sido explicada.

La fuente proteica tiene un efecto marcado sobre los requerimientos de cinc; la proteína de soya y la torta de ajonjolí resultan en un requerimiento mucho más alto de cinc que la caseína o la clara de huevo (*Nutrition Reviews* 19, 111 (1961); R.M. Forbes y J.M. Yohe, *J. Nutrition* 70, 52 (1960)). Tal efecto ha sido atribuido al ácido fítico contenido en las proteínas de semillas, pero todavía no se acepta como la única explicación satisfactoria. El calentamiento en autoclave mejora la disponibilidad del cinc de tales proteínas. Con algunas excepciones los agentes quelantes ("chelating agents") tales como el EDTA (ácido etilendiamina tetracético) alivian los síntomas de la deficiencia de cinc producida por la ingestión de proteína de soya (Vohra y Kratzer, *J. Nutrition* 82, 249 (1964)). Se ha postulado que el efecto se debe a que los quelantes tienen suficiente afinidad para combinarse con el cinc, removiéndolo de los complejos con materiales tales como el fitato, y haciéndolos más absorbibles. Los efectos de posibles quelantes naturales (por ejemplo, aminoácidos, proteínas y otros) no han sido ampliamente estudiados. Sin embargo, se ha descrito que la cisteína (pero no la cistina) alivia todos los síntomas de deficiencia de cinc en pollos alimentados con proteína de soya, mientras que la histidina alivia solamente la anormalidad de las patas.

En cerdos se ha logrado aliviar los síntomas de deficiencia de cinc combinando la administración de la dieta en forma recién-humedecida con una ingesta de alimento limitada a un período de una hora dos veces al día (comparado con una alimentación *ad libitum*) (P.K. Lewis, Jr., R.H. Grummer y Hoekstra, *J. Animal Sci.* 16, 927 (1957)). Tal efecto no parece haberse estudiado en otras especies, y su mecanismo no ha sido elucidado. Se cita aquí para enfatizar el hecho de que cambios dietéticos aparentemente insignificantes pueden afectar notablemente los requerimientos de cinc.

En vista de las muchas interacciones del cinc con otros componentes de la dieta, es obvio que es imposible establecer los requerimientos de cinc si no se definen las condiciones dietéticas específicas. Las estimaciones recientes de los requerimientos de cinc oscilan desde aproximadamente 12 partes por millón de dieta secada al aire para ratas jóvenes alimentadas con una dieta de caseína, hasta más de 70 partes por millón para pavos jóvenes y cerdos alimentados con dietas ordinarias. Los requerimientos de cinc para animales adultos son menores que para los animales en crecimiento, pero no se han formulado requerimientos específicos. Las necesidades de cinc para el hombre no se conocen, pero por estudios de balance en niñas pre-adolescentes se ha estimado recientemente en forma tentativa que los requerimientos son aproximadamente de 6 miligramos de cinc por día (R.W. Engel, R.F. Miller y N. O. Price, en *Zinc Metabolism*, p. 326) cifra que no está en gran desacuerdo con estimaciones anteriores. Aparentemente no es difícil lograr tales ingestas con una gran variedad de dietas, pero en vista de las experiencias con animales alimentados con diferentes tipos de dietas, se hace necesario más estudio, para poder evaluar adecuadamente los requerimientos de cinc en el hombre.

El cinc es un componente de muchas metalo-enzimas, incluyendo anhidrasa carbónica, fosfatasa alcalina, carboxipeptidasas pancreáticas A y D, deshidrogenasa alcohólica, deshidrogenasa

láctica, deshidrogenasa glutámica, deshidrogenasa del gliceraldehído 3-fosfato y deshidrogenasa málica. El reconocimiento del cinc como una parte integral de numerosas enzimas explica adecuadamente por qué es un elemento esencial; no obstante, los sitios críticos del defecto metabólico debido a la deficiencia de cinc son desconocidos. Generalmente la concentración del cinc en la mayoría de los órganos o tejidos de animales deficientes disminuye poco o nada, comparada con la de animales que reciben cantidades suficientes, pero no exceso de cinc. Pero hay excepciones entre las que están el hueso, el cabello, las plumas, el plasma sanguíneo, la yema del huevo, y algunas veces, el páncreas, el hígado y los testículos. El "pool" de cinc con rápido recambio parece estar disminuído en animales deficientes.

Esfuerzos por demostrar una disminución en las metalo-enzimas que contienen cinc, tales como las deshidrogenasas, en la mayoría de los tejidos suaves de animales deficientes en cinc han sido infructuosas. La fosfatasa alcalina del plasma sanguíneo usualmente disminuye pero la significación metabólica de esta disminución es desconocida. Sorprendentemente, una marcada disminución de la concentración del cinc en tejidos suaves ha sido descrita en ratas deficientes de vitamina B₆, pero la causa e implicación de este cambio no se ha establecido y el efecto no ha sido estudiado en otras especies (J.M. Hsu, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 119, 177 (1965)).

Hay evidencia de que ratas deficientes en cinc en ayunas oxidan carbohidratos y grasas marcadas con ¹⁴C en forma similar a ratas control en ayunas, sin embargo, una proporción mayor de una dosis de aminoácidos marcados fue recuperada como CO₂ respiratorio de ratas deficientes en cinc (R.C. Theuer y Hoekstra, *J. Nutrition* 89, 448 (1966)). Estos resultados así como otros estudios con organismos o sistemas más simples, han conducido a la especulación de que el metabolismo energético no está sustancialmente alterado en animales deficientes en cinc pero que algunos aspectos del metabolismo proteico, del metabolismo de los ácidos nucleicos o de la división celular si están defectuosos. El papel específico que el cinc juega en estos procesos no ha sido elucidado. Esta idea es, sin embargo, consistente con el efecto marcado de la deficiencia de cinc sobre el crecimiento. Turk (*Poultry Sci.* 45, 608 (1966)) recientemente encontró que no hay alteración en el contenido hepático de DNA, RNA, nitrógeno total o nitrógeno soluble en hígado de pollos deficientes en cinc.

Entre los defectos descritos en animales con deficiencia de cinc están la absorción retardada e irregular de glucosa y aminoácidos, la disminución de la amilasa y de la actividad proteolítica del páncreas (ratas), la disminución de la carbocipeptidasa pancreática A, pero no de la B (ratas), el aumento del ácido úrico sanguíneo (ratas) no confirmado, sin embargo en un estudio reciente (M.H. Macapinlac, W.N. Pearson y W.J. Darby, en *Zinc Metabolism*, p. 142); el aumento de la gammaglobulina del plasma sanguíneo con o sin disminución de la albúmina (cerdos, ovejas y terneras), la disminución de una lipoproteína sanguínea específica durante ayuno prolongado (codorniz), la disminución de la fosfatasa alcalina del suero (cerdos, terneras y el hombre), la disminución de la fosfatasa alcalina intestinal (ratas) y la disminución de fosfatasa alcalina ósea (aves de corral). No ha podido determinarse si tales efectos resultan directamente de la deficiencia de cinc o indirectamente por la inanición, la ingesta reducida de alimentos, o la susceptibilidad a infecciones.

Las posibles relaciones del cinc con el almacenamiento o liberación de la insulina han sido ampliamente estudiadas, pero los datos no son conclusivos. Las observaciones preliminares sobre el papel del cinc en estimular la cicatrización de herida en la rata y en el hombre (W.J. Pories y Strain, en *Zinc Metabolism*, p. 378) así como sobre la defectuosa cicatrización en terneros con deficiencia de cinc (W.J. Miller, J.D. Morton, W.J. Pitts y C.M. Clifton, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 118, 427 (1965)) requieren mayor estudio. El estudio del cinc en los tejidos del cuerpo ha

sido muy facilitado por el desarrollo de métodos analíticos exactos. La espectrofotometría de absorción atómica es un desarrollo reciente muy importante en este campo. Entre las enfermedades consistentemente asociadas con el metabolismo del cinc pueden citarse la cirrosis post-alcohólica (cinc sérico disminuído, cinc hepático disminuído, excreción de cinc urinario aumentada); la anemia perniciosa (contenido de cinc de los eritrocitos aumentado); y la leucemia mieloide crónica (contenido de cinc de los granulocitos disminuído) (Prasad, en *Zinc Metabolism*, p. 250). Un informe reciente describe una disminución más generalizada del contenido de cinc de los granulocitos detectable por evaluación histoquímica en el torrente sanguíneo o médula ósea, en una gran variedad de enfermedades neoplásticas, pero son necesarios más datos para respaldar estas observaciones (W.P. Lawkowitz, I.I. Kszeminska-Lawkowitz, S. Szmigolski e I. Litwin, *Fed. Proc.* 25, parte II, T809 (1966)). Se ha descrito que el contenido sérico del cinc disminuye en muchas infecciones agudas o crónicas y que correlaciona con fiebre, pero la validez de esta observación ha sido puesta en duda. La deficiencia de cinc puede estar asociada también con kwashiorkor (H.H. Sandstead *et al.*, *Am. J. Clin Nutrition* 17, 15 (1965)).

La literatura abunda en informes de alteraciones de la concentración o del metabolismo del cinc en muchas enfermedades, pero éstas a menudo no han sido confirmadas o se consideran controversiales. No es posible al presente hacer ninguna deducción del tipo general sobre la relación de muchas enfermedades, y en particular las enfermedades neoplásticas con el metabolismo del cinc. El hecho de que se describan en muchas condiciones patológicas alteraciones en las concentraciones de cinc en la sangre y otros tejidos, sin embargo, debe ser considerado en investigaciones nutricionales.

CAPITULO XXXIII

CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE EL CALCIO; EL FOSFORO Y EL MAGNESIO

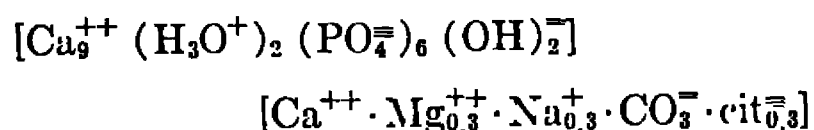
D.M. Hegsted, Ph. D.

El calcio y el fósforo juntos, constituyen la mayor parte del contenido mineral de los tejidos esqueléticos. La mayoría del calcio (99%) y del fósforo (70 a 80%) del cuerpo se encuentra en los huesos en proporción prácticamente constante. Pérdidas o ganancias apreciables de uno de estos elementos pueden reflejarse en cambios similares en el contenido del otro.

Este contenido elevado de mineral es responsable, en su mayor parte, de la rigidez y fortaleza de los huesos y de los dientes. Los huesos constituyen una reserva de mineral que puede ser utilizada en caso de necesidad. El calcio que se encuentra en la travécula es el más fácilmente movilizable; los tejidos duros de los dientes, es decir la dentina y el esmalte, son más estables desde el punto de vista metabólico.

Calcio

W.F. Neuman y M.W. Neuman (*The Chemical Dynamics of Bone Mineral*. University of Chicago Press, Chicago, 1958) dan la composición general de los minerales del hueso (primordialmente cristales de hidroxapatita) como:



Ya que aparentemente no hay evidencia de que exista más de una fase, puede asumirse que la composición exacta se determina por intercambio superficial. La evidencia obtenida recientemente lleva a la conclusión de que el suero normal está realmente supersaturado con respecto al mineral óseo. Por lo tanto, el problema ha cambiado. Antes se trataba de explicar los mecanismos que provocan la calcificación y ahora a descubrir aquellos sistemas que previenen y controlan la deposición de calcio.

Puesto que el fluido que baña los cristales no puede estar sobresaturado, se deduce que el fluido intersticial no puede ser igual que el suero. La presencia de materiales tales como carbonatos, iones de magnesio, iones de sodio, citratos y otros, así como el pH, modifican grandemente la solubilidad de la hidroxapatita del hueso. Se supone que los mecanismos reguladores tales como aquellos en que participa la vitamina D y la glándula paratiroides actúan modificando la actividad celular que produce materiales que modifican la solubilidad y, por lo tanto, mantienen un gradiente entre el fluido intersticial y el suero sanguíneo.

La formación del hueso depende de la actividad de los osteoblastos que sintetizan la matriz orgánica y probablemente modifican el proceso de calcificación. La química y la bioquímica de los polisacáridos y de las proteínas del cartílago está siendo al presente investigada activamente.

Valga decir que la tendencia usual a relacionar enfermedad ósea con anormalidades en el metabolismo del calcio es poco recomendable.

Debería ser posible, utilizando isótopos radioactivos que son metabolizados de una manera muy similar al calcio, seguir el movimiento del calcio en varios tejidos. Sin embargo, la interpretación de estudios isotópicos ha sido más complicada de lo que se anticipó en un principio (ver R.P. Heaney, *Clin. Orth.* 31, 153 (1963)). Neuman y Neuman enumeran los siguientes factores que influyen en la penetración y el destino de los iones que se incorporan a la fase mineral del hueso:

Mecanismos fisicoquímicos: a) formación de cristales nuevos; b) recristalización; c) intercambio superficial; d) intercambio intracristalino (difusión hacia el interior del cristal); y e) crecimiento del cristal.

Influencias fisiológicas modificantes: a) formación de matriz; b) reabsorción del hueso; c) madurez del hueso (la edad determina las velocidades de difusión, recristalización y procesos similares); y d) factores reguladores, tales como velocidad de excreción, función paratiroidea, vitamina D y dilución por materiales dietéticos.

El calcio radioactivo se equilibra con el "pozo rápidamente miscible" en un período que oscila entre pocos minutos a quizás una hora después de su inyección. Dicho "pozo" incluye al calcio del plasma y del fluido extracelular y algo del calcio en las células y los huesos. Después de un día o dos se mezcla con el "pozo miscible total", el que contiene una fracción adicional de calcio del hueso y calcio celular, además del calcio que se encuentra en los tejidos cartilaginosos y en los tejidos suaves calcificados. Se cree que aproximadamente 100 a 200 mg de calcio son excretados al interior del intestino, diluyéndose este parcialmente con el calcio de la dieta y siendo parcialmente reabsorbido. El calcio radioactivo se disminuye aún más por la excreción urinaria y la formación de nuevo "hueso no intercambiable". La reabsorción ósea, después de períodos largos de tiempo, diluye aún más el "pozo miscible".

En condiciones ideales, el objetivo es poder medir el tamaño de cada uno de los componentes de los pozos metabólicos, así como las velocidades de recambio entre los mismos. Cuando ocurren modificaciones en el metabolismo del calcio, éstas deben caracterizar la naturaleza de la anormalidad. Ya se dispone de Calcio-47, un emisor de rayos gama, y su deposición en el hueso en diferentes áreas se pueden estimar ahora por conteo externo.

La deposición de calcio radioactivo en el hueso no es sinónimo con crecimiento óseo debido al intercambio al nivel de la superficie del cristal. Parece claro que la fracción intercambiable es aproximadamente un 5% del hueso total en animales jóvenes, y mucho menor en animales adultos. La deficiencia de calcio parece incrementar la fracción intercambiable, lo cual probablemente sea parte del proceso de adaptación que favorece la retención de calcio cuando su ingesta es baja.

En el suero, el nivel de calcio es controlado por la paratiroides y es muy constante a pesar de variaciones en la ingesta de calcio. La hormona paratiroidea controla los niveles séricos por acción directa sobre el hueso, pero también indirectamente, modificando la excreción renal de fosfatos. Evidencia reciente indica la presencia de hormonas paratiroides adicionales, la calcitonina y la tirocalcitonina, las cuales se oponen a los efectos de la hormona paratiroidea convencional (D.H. Copp *et al.*, *Endocrinology* 70, 638 (1962)).

La concentración normal del calcio en el suero sanguíneo es aproximadamente 10 mg por 100 ml. (5.0 mEq por litro). Cerca del 60% de éste se encuentra en forma ionizada y casi todo el resto se encuentra combinado a las proteínas séricas. El grado de ionización depende principalmente de la concentración de proteínas y del pH. El nivel de calcio ionizado es importante en el mantenimiento de la integridad funcional de muchas células, especialmente de la irritabilidad neuromuscular. Una disminución sustancial da como resultado tetania, mientras que un aumento puede conducir a fallo respiratorio o cardíaco como consecuencia del daño en la función muscular. Sin embargo, en el hombre estas condiciones son muy raras veces debidas a cambios en el nivel de ingesta de calcio.

Los estudios *in vitro* de la absorción del calcio utilizando fragmentos de intestino, han demostrado que el calcio puede ser absorbido en contra de un gradiente de concentración mediante un proceso que consume energía, y que depende de la administración de vitamina D que es estimulado por ella. La eficiencia del proceso depende del contenido del calcio en la dieta y de la acción de la hormona paratiroidea (L.B. Dowdle, D. Schachter y H. Schwenker, *Am. J. Physiol.* 198, 269 (1960)). El calcio también puede ser absorbido por simple difusión, proceso que también puede depender de la vitamina D (H.E. Harrison y H.C. Harrison, *Ibid.* 199, 265 (1960)). Es posible que el proceso activo pueda ser esencialmente un mecanismo de emergencia que entra en acción, cuando el suministro del calcio es bajo y se inactiva cuando el suministro es abundante.

El efecto de los fosfatos, los fitatos y los oxalatos como inhibidores de la absorción del calcio ha sido demostrado en animales experimentales y, en ciertas situaciones, en el hombre. Parece poco probable, no obstante, que estos materiales ordinariamente influyan en forma significativa sobre los requerimientos de calcio en el hombre. El informe de la FAO/WHO (*Calcium Requirements. World Health Organization Technical Report Series No. 230, Geneva, 1961*) señala que algunas dietas ricas en productos vegetales contienen suficiente fitato para precipitar teóricamente todo el calcio de la dieta; sin embargo, no hay evidencia de que los consumidores de tales dietas sufran de deficiencias de calcio. La absorción del fósforo presente como fitato probablemente requiere su hidrólisis previa por la fitasa. Se han hecho esfuerzos numerosos por determinar si la fitasa intestinal es de origen endógeno o de origen dietético. Sería de esperar que los oxalatos inhibieran seriamente la absorción de calcio en vista de la solubilidad tan baja del oxalato de calcio. Sin embargo, parece no haber evidencia de que los niveles de oxalato presentes corrientemente en las dietas humanas sean particularmente importantes.

Hay evidencia considerable que indica que ciertos aminoácidos, el ácido cítrico y la lactosa, pueden incrementar la absorción del calcio en animales. No se sabe si estos efectos son suficientemente intensos o prolongados para ser de importancia en la nutrición humana. Lo más probable es que no lo sean.

El calcio se utiliza muy pobremente en las esteatorreas. No se sabe si la pérdida del calcio es causada por los niveles elevados de ácidos grasos libres y la insolubilidad de sus jabones de calcio o si más bien es el resultado directo de la enfermedad en sí y sus complicaciones.

El estudio del efecto de las emociones sobre el balance del calcio, puede dar resultados muy interesantes al obtener datos adecuados. O. Malm (*Calcium Requirement and Adaptation in Adult Men. Oslo University Press, Oslo, 1958*) describió a un individuo con una ingesta de 574 mg por día, en balance positivo con una retención de 60 mg por día, quien durante los siguientes 10 meses bajo los efectos de preocupación y tensión se mantuvo en balance negativo, alcanzando en cierto momento 921 mg por día. Al cesar el período de tensión, el balance mejoró notablemente. Es necesario prestar mayor atención a la excreción de calcio en el sudor, la cual tradicionalmente se ha asumido que es una cantidad insignificante. Sin embargo, existen datos que demuestran lo

contrario. C.F. Consolazio y colaboradores (*J. Nutrition* 78, 78 (1962)) han calculado que las pérdidas alcanzan cantidades hasta de 1 g por día en individuos que trabajan bajo altas temperaturas y que por lo tanto transpiran profusamente.

La mayoría del calcio presente en las heces, es calcio de la dieta que no es absorbido, pero otra parte es de origen endógeno. Se cree generalmente que no hay excreción activa hacia el intestino, sino que el calcio de las secreciones intestinales se mezcla con el calcio de la dieta y se reabsorben juntos. Se han descrito excreciones fecales sustancialmente mayores que el total de la ingesta de calcio, pero queda por elucidar si tales situaciones reflejan una falla en los mecanismos de absorción, o una excreción fecal aumentada.

Bajo condiciones ordinarias el nivel del calcio en la orina parece depender en gran parte de factores endógenos característicos del individuo.

Incrementos en la absorción del calcio, por ejemplo, elevan el nivel de su excreción, pero la línea basal de excreción permanece diferente en individuos diferentes. La edad y el sexo no constituyen variables importantes cuando la excreción se expresa en base al peso corporal.

Al considerar los requerimientos de calcio, es importante señalar que a menudo se pasa por alto el hecho de que los balances de calcio suelen ser, por lo general, malos indicadores de la retención real de calcio. Puesto que el "balance" se basa en la diferencia entre una ingesta grande y una excreción grande, la diferencia entre éstas es de por sí inexacta. Los errores comunes, el que el paciente deje de consumir la totalidad de la dieta y el descuido en la recolección de toda la excreta, conducen a balances positivos falsos. Se desconoce hasta que punto estos errores estén aún influyendo sobre el pensamiento actual. Las estimaciones de los requerimientos de calcio para niños y lactantes han sido derivadas calculando la velocidad del crecimiento esquelético en base a cambios de peso corporal. Los recién nacidos comienzan con aproximadamente 30 g de calcio corporal y se asume que el cuerpo adulto contiene de 1000 a 1200 g. Una ingesta de 1/2 g por día de la cual se utiliza un 30%, resultaría al cabo de 20 años en 1000 g de calcio corporal. Las recomendaciones dietéticas (NRC) son, por lo tanto, sustancialmente superiores a las necesidades estimadas teóricamente. Las ingestas sugeridas por la OMS/FAO, sin embargo, se aproximan a esta estimación.

Contrariamente a la situación en los niños en quienes la retención de calcio es necesaria, el adulto bien nutrido aparentemente no necesita de más calcio que el que se requiere para mantener los depósitos corporales. La ingesta promedio en países en donde la leche no es un alimento común y en donde no hay otras fuentes usuales de calcio es probablemente alrededor de 300 a 400 mg por día, y aún así, los adultos permanecen en balance. Se ha encontrado que los adultos en general se encuentran en balance con los niveles de ingesta proporcionados por su dieta usual. De ahí que el autor ha concluido que ordinariamente la determinación del nivel del calcio requerido para mantener el balance de un adulto simplemente estima la ingesta previa del individuo.

El informe del Grupo de Expertos FAO/OMS (referencia citada anteriormente) concluye que ingestas de 400 a 500 mg diarios representarían la ingesta práctica sugerida para los adultos, y afirma que la ventaja de una ingesta superior a este nivel no ha sido comprobada.

La adaptación observada en individuos que consumen dietas bajas en calcio se logra por una absorción más eficiente del calcio dietético comparada con la eficiencia de absorción en personas acostumbradas a ingestas superiores. Esta adaptación a niveles bajos de ingesta de

calcio ha sido demostrada convincentemente en el hombre (Malm, *loc. cit.*) y en los animales (K.M. Kon *et al.*, *Acta Biochim. Polon.* 7, 167 (1960); S.N. Gershoff, M.A. Legg y D.M. Hegsted, *J. Nutrition* 64, 303 (1958)). J.M. Boda y H.H. Cole (*Ann. N. Y. Acad. Sci.* 64, 370 (1956)) encontraron que "la fiebre de leche" en vacas lecheras podía prevenirse en parte, limitando la ingesta de calcio un poco antes del parto. Se presume que los mecanismos requeridos para movilizar y utilizar eficientemente el calcio son operantes en los momentos de alta necesidad.

Aún cuando los estudios disponibles demuestran que el hombre se puede adaptar a niveles bajos de ingesta, no demuestran que el nivel más bajo estudiado sea el consumo mínimo al cual pueda lograrse el balance. Tampoco ofrecen evidencia de que un nivel alto sea más beneficioso o más detrimental que uno bajo.

Durante el embarazo cuando se está formando el hueso y durante la lactancia, los requerimientos de calcio están aumentados. Una lactancia normal y aún prolongada no es rara en mujeres que consumen relativamente bajas cantidades de calcio, y podría esperarse que los mecanismos de adaptación normales respondieran a la necesidad mayor y que el calcio dietético fuera más eficientemente utilizado. No obstante, en algunas partes del mundo algunas mujeres después de repetidos embarazos y lactancias desarrollan osteomalacia. Estos casos aparentemente responden a la terapia con vitamina D, aunque no se aumente mucho la ingesta dietética de calcio.

La pérdida de hueso generalmente principia a los 45 años de edad, y puede considerarse una consecuencia inevitable del envejecimiento. Se ha estimado que solamente en los Estados Unidos, 14 millones de mujeres padecen de cierto grado apreciable de osteoporosis. La osteoporosis también es común en otros países con ingestas de calcio relativamente elevadas, tales como Inglaterra y Escandinavia, sin embargo, no existen buenos datos sobre su prevalencia. Datos de otros países en donde la ingesta es habitualmente baja son prácticamente inexistentes. A pesar de que se recomiendan dietas altas en calcio en el tratamiento de la osteoporosis, las retenciones aparentes del calcio que se observan en los estudios de balance, no están respaldadas por los incrementos esperados en la densidad del hueso.

Existe evidencia reciente que sugiere que la deficiencia de fluoruro es una causa importante. La prevalencia de osteoporosis es mucho más baja en comunidades en que el agua potable tiene un alto contenido de fluoruro (más de 4 p.p.m.) que en aquellas con un contenido bajo de fluoruro (N.C. Leone *et al.*, *Arch. Indust. Health* 21, 324 (1960); D.S. Bernstein *et al.*, *J. Am. Med. Assn.* 198, 499 (1966)).

Hay evidencia de una asociación entre varias condiciones clínicas con cantidades excesivas de calcio en el suero o en la orina, o con la calcificación de los tejidos suaves: la hipercalcemia idiopática de la infancia, el "síndrome del alcali lácteo", hipercalcuria, y cálculos renales. Ingestas elevadas de calcio pueden ser un factor contribuyente, ya que ingestas bajas de calcio son parte de una terapia efectiva; sin embargo, no existen datos epidemiológicos disponibles que respalden esta conclusión.

La deposición de estroncio radioactivo en el esqueleto está influenciada por la relación $^{90}\text{Sr}/\text{Ca}$ y por el calcio total en la dieta. Esta deposición tiende a ser elevada cuando la relación es elevada y cuando la ingesta de calcio es baja en relación a las necesidades. Estas relaciones son bastante complejas y pueden ser necesarios grandes cambios en la dieta para producir cambios relativamente pequeños en la deposición del estroncio radioactivo. La practicabilidad de tales programas en casos de precipitación radioactiva elevada no ha sido demostrada y debe ser evaluada contra sus posibles efectos perjudiciales.

Fósforo

Los compuestos del fósforo juegan un papel central en las transformaciones de energía en el organismo, y el conocimiento de las "uniones fosfato de alta energía" ha sido uno de los mayores avances de la bioquímica en los tiempos recientes. La adenosina trifosfato y los nucleótidos formados a partir de varias vitaminas son esenciales en el catabolismo y anabolismo de los carbohidratos, las grasas y las proteínas. Las núcleo-proteínas que contienen fósforo constituyen una gran parte de la materia del núcleo celular, encontrándose también en el citoplasma de todas las células; son materiales claves en los procesos de división celular, reproducción, y transmisión de los caracteres hereditarios. Los virus, que de alguna manera modifican la función normal celular para reproducirse, también son núcleo-proteínas. Entre los materiales liposolubles se encuentra una gran variedad de fosfolípidos, habiéndose logrado grandes avances recientemente en la identificación de estas sustancias.

El fósforo de la sangre y del suero se agrupa en 3 clases: como parte de la molécula de lípidos, como ésteres, y como fósforo inorgánico. El fósforo inorgánico en el suero de los niños es de aproximadamente 5 a 6.6 mg por 100 ml y disminuye gradualmente hasta un nivel de 3 a 4 mg en el adulto. Ordinariamente existe en el suero una relación inversa entre el fosfato inorgánico y el calcio, pero esta relación no es consistente.

Es posible que la mayoría, si no la totalidad, del fósforo sea absorbido en forma de fósforo libre. Por lo tanto, los diferentes ésteres orgánicos deben ser hidrolizados antes de su absorción, probablemente por la acción de las varias fosfatasas. La absorción del fósforo inorgánico está relacionado, en parte a la cantidad del calcio en la dieta o a otros materiales similares que puedan formar sales insolubles y que, por lo tanto, también están relacionadas con la absorción del calcio. El hierro, el estroncio, el berilio y otros elementos similares también forman fosfatos insolubles. Como se indicara anteriormente, la relación Ca/P probablemente tenga poca importancia en el hombre adulto.

El fósforo fecal está constituido por el fósforo no absorbido más el excretado en el tracto intestinal. Las cantidades de estas dos fuentes no están bien definidas y se presume que la absorción de ambas está afectada por los mismos factores. Bajo condiciones ordinarias, las heces contienen cerca de un 30% de la cantidad presente en la dieta. El fósforo dietético, por lo tanto, se absorbe mejor que el calcio, y consecuentemente, la excreción renal del fósforo es mucho mayor que la del calcio.

El fósforo urinario es principalmente fosfato inorgánico, y la cantidad del mismo depende principalmente de la cantidad que se absorbe en el tracto intestinal. La oxidación de los azúcares requiere fósforo y hay una baja temporal de los fosfatos del suero y de la excreción de fosfatos después de la ingestión de carbohidratos. El catabolismo de los tejidos del organismo en inanición, la acidosis, y otras condiciones similares, resultan en liberación de considerables cantidades de fósforo el cual es excretado por el riñón.

Existen relativamente pocos datos sobre los requerimientos reales de fósforo bajo diversas condiciones. El "Consejo de Alimentación y Nutrición" (*Food and Nutrition Board, E.E.U.U.*) (*Recommended Dietary Allowances, 1964*) ha llegado a la conclusión de que las ingestas recomendadas deben ser por lo menos iguales a las de calcio en dietas de niños y madres durante la última fase del embarazo y durante la lactancia. Para otros adultos se acepta que son aproximadamente 1.5 veces las de calcio.

Magnesio

El cuerpo humano adulto contiene aproximadamente 25 g de magnesio, y por lo tanto, éste es uno de los principales constituyentes minerales. Se encuentra principalmente como un ión intracelular y los tejidos magros contienen aproximadamente 43 mg por kg. Su concentración en el suero sanguíneo es de aproximadamente 2 mEq por litro. Se sabe desde hace mucho tiempo que el magnesio es un nutriente esencial para la rata. Hasta muy recientemente se está obteniendo información que indica un papel significativo del magnesio en nutrición humana. Los métodos para la determinación analítica del magnesio han mejorado mucho con los resultados esperados en cuanto a un mejor conocimiento de su función. Se sabe ahora que el magnesio es necesario para la actividad de muchas enzimas, particularmente aquellas que intervienen en la fosforilación oxidativa. Tales funciones no explican todavía los signos o síntomas que se observan en la deficiencia nutricional de magnesio (W.E.C. Wacker y B.L. Vallee, *New Engl. J. Med.* 259, 431 (1958)).

Ratas jóvenes alimentadas con dietas libres de magnesio desarrollan al cabo de pocos días, una marcada vasodilatación seguida por cambios necróticos y ataques convulsivos que a menudo terminan con la muerte. Es de particular interés el hecho de que la calcificación de muchos tejidos suaves que se observa en animales que sobreviven esta deficiencia severa, puede ser producida también en animales alimentados con dietas sólo marginalmente deficientes. Las cantidades de magnesio requeridas para prevenir las lesiones y los signos de su deficiencia dependen de las cantidades de calcio y fósforo (y quizás de otros nutrientes) en la dieta.

Ratas y monos alimentados con dietas limitantes en magnesio son considerablemente más susceptibles a la aterosclerosis inducida por la administración dietética de colesterol (J.J. Vitale et al., *Circ. Res.* 12, 642 (1963)). Dietas elevadas en magnesio son parcialmente efectivas en la prevención de la deposición de cálculos de oxalato en las ratas con oxaluria inducida por la administración de dietas deficientes en vitamina B₆ (S.N. Gershoff y S.B. Andrus, *J. Nutrition* 73, 308 (1961)).

Recientemente se ha presentado evidencia clara de deficiencia del magnesio en el hombre (Wacker, F.D. Moore, D.D. Ulmer y Vallee, *J. Am. Med. Assn.* 180, 161 (1962); R.D. Montgomery, *Lancet* 2, 74 (1960)). La tetania hipomagnesémica, muy similar a la tetania hipocalcémica, se distingue determinando los niveles de calcio y de magnesio del suero sanguíneo, así como por la pronta respuesta a la administración de magnesio. Evidencia reciente basada en una metodología adecuada no deja duda de que la deficiencia de magnesio puede constituir un problema clínico importante. No hay evidencia satisfactoria sobre los requerimientos normales; sin embargo valores de 150 mg por día para niños, 400 mg por día durante el embarazo y la lactancia y 250 mg por día para adultos, han sido sugeridos como ingestas adecuadas.

Autores de los artículos originales de la Tercera Edición en inglés de
"PRESENT KNOWLEDGE IN NUTRITION"

CONTRIBUYENTES

- | | |
|---|--|
| <p>WILLIAM B. BEAN, M.D.
<i>University of Iowa, Iowa City</i></p> <p>WILLIAM F. BRIDGERS, M.D.
<i>University of Miami, Miami</i></p> <p>W. DUANE BROWN, PH.D.
<i>University of California, Berkeley</i></p> <p>WILLIAM J. DARBY, M.D., PH.D.
<i>Vanderbilt University, Nashville</i></p> <p>HELEN M. DYER, PH.D.
<i>Federation of American Societies for Ex-
perimental Biology, Bethesda</i></p> <p>GILBERT B. FORBES, M.D.
<i>University of Rochester, Rochester</i></p> <p>WENDELL H. GRIFFITH, PH.D.
<i>Federation of American Societies for Ex-
perimental Biology, Bethesda</i></p> <p>W. STANLEY HARTROFT, M.D., PH.D.
<i>The Hospital for Sick Children, Toronto</i></p> <p>D. MARK HEGSTED, PH.D.
<i>Harvard School of Public Health, Boston</i></p> <p>ROBERT E. HODGES, M.D.
<i>University of Iowa, Iowa City</i></p> <p>WILLIAM G. HOEKSTRA, PH.D.
<i>University of Wisconsin, Madison</i></p> <p>OGDEN C. JOHNSON, PH.D.
<i>National Institutes of Health, Bethesda</i></p> <p>RICHARD J. JONES, M.D.
<i>University of Chicago, Chicago</i></p> <p>C. GLEN KING, PH.D.
<i>St. Luke's Hospital Center, New York</i></p> | <p>MICHAEL C. LATHAM, M.B., M.P.H.,
D.T.M. & H.
<i>Harvard School of Public Health, Boston</i></p> <p>ORVILLE A. LEVANDER, PH.D.
<i>Food and Drug Administration, Washing-
ton, D. C.</i></p> <p>STANLEY LEVEY, PH.D.
<i>University Hospitals of Cleveland, Cleve-
land</i></p> <p>JAMES F. MEAD, PH.D.
<i>University of California, Los Angeles</i></p> <p>OLAF MICKELSEN, PH.D.
<i>Michigan State University, East Lansing</i></p> <p>ROBERT E. OLSON, M.D., PH.D.
<i>St. Louis University, St. Louis</i></p> <p>JAMES C. PEDEN, JR., M.D.
<i>Washington University, St. Louis</i></p> <p>EDUARDO A. PORTA, M.D.
<i>Hospital for Sick Children, Toronto</i></p> <p>OSWALD A. ROELS, PH.D.
<i>Columbia University, Palisades, N.Y.</i></p> <p>HAROLD H. SANDSTEAD, M.D.
<i>Vanderbilt University, Nashville</i></p> <p>JAMES H. SHAW, PH.D.
<i>Harvard School of Dental Medicine, Bos-
ton</i></p> <p>JOSEPH J. VITALE, PH.D.
<i>Tufts University College of Medicine, Bos-
ton</i></p> <p>MARY ANN WILLIAMS, PH.D.
<i>University of California, Berkeley</i></p> |
|---|--|