

EFECTO DE LA AUREOMICINA EN RATAS Y RATONES DEFICIENTES EN VITAMINA B¹² (*)

Werner G. Jaffé

Instituto Nacional de Nutrición

Se han empleado sustancias bacteriostáticas y bactericidas en estudios experimentales nutrológicos con gran éxito. Gracias a ellas y a su acción depresiva sobre la flora intestinal sintetizante de ciertas vitaminas del complejo B, ha sido posible el estudio de la acción fisiológica de muchas de ellas (1). En estos experimentos, la inclusión del antibiótico en la dieta experimental produce o agrava la deficiencia vitamínica. Este efecto ha sido atribuido a la supresión de la síntesis intestinal de ciertas vitaminas por la flora microbiana del tracto gastro-intestinal.

En estudios más recientes se han obtenido resultados opuestos a los anteriores, es decir, que experimentando con otras vitaminas, principalmente la B₁₂, se ha observado un efecto estimulante sobre el crecimiento de los animales experimentales. Arsenicales (2), sulfadrogas (3), preparaciones crudas conteniendo antibióticos y antibióticos puros (4) han sido estudiados al respecto y la gran mayoría de los autores encontraron un efecto más o menos estimulante sobre el crecimiento si se usaron las concentraciones y dietas experimentales adecuadas. La literatura sobre este punto ya es considerable y la mayoría de los autores coincide en la opinión de que se trata de un efecto sobre la flora intestinal, o sea que se suprimen gérmenes dañinos o que la inhibición de algunos gérmenes da mejor oportunidad para el desarrollo de otros que son sintetizantes de vitaminas.

Los animales estudiados al respecto hasta la fecha son: pollos, ratas, cerdos y algunos rumiantes. La mayoría de los experimentos se efectuaron con dietas deficientes en vitamina B₁₂, o

(*) Recibido el 16 de diciembre de 1951.

el "factor proteico animal", pero también se ha demostrado un efecto comparable en casos de deficiencias de otras vitaminas. Por ejemplo: pollos alimentados con dietas que contenían cantidades subóptimas de riboflavina o niacina o ácido fólico respondieron a una suplementación con aureomicina con un mejor crecimiento (5) y resultados parecidos se han obtenido con ratas (6).

Casi todos los estudios sobre el efecto nutrológico de los antibióticos se han efectuado en animales bien nutridos y no adaptados a las dietas experimentales. En estos casos es posible que haya cierta modificación de la flora intestinal por el cambio de dieta al iniciar los experimentos, cambio no necesariamente debido únicamente al antibiótico dietético.

Como nosotros contamos con una cría de animales que se ha mantenido por varias generaciones y durante tres años ininterrumpidamente con la misma dieta a base de soya y maíz, y reforzada con minerales y con vitaminas, con la excepción de la vitamina B₁₂, nos pareció de interés estudiar el efecto de la aureomicina dietética bajo estas condiciones experimentales.

PARTE EXPERIMENTAL

Los experimentos se efectuaron con ratones blancos que se tenían ya en la dieta basal por lo menos siete generaciones, y con ratas de la raza "Sprague Dawley", que tenían cinco o más generaciones en la dieta basal. La composición de esta dieta se ha descrito en oportunidades anteriores (7) y consistía de harina de soya, 46%; harina de maíz, 46%; aceite, 5%; mezcla de sales sin cobalto, 2%, y suplementos adecuados de las vitaminas A, D y del complejo B, con excepción de la B₁₂. Los animales se tenían en jaulas comunes con la dieta basal.

Las hembras embarazadas se separaban 2-8 días antes del parto y se tenían en jaulas individuales y con la dieta experimental respectiva. Las crías se redujeron a 6 en caso de haber más animales en una sola cría. Los animales nacidos en estos experimentos se separaron de la madre después de 28 días y se alimentaron desde esa fecha con la dieta basal sin suplemento del antibiótico.

Las dietas experimentales se prepararon agregando a la dieta basal los suplementos señalados en la Tabla N^o 1. Se hicieron

tres experimentos distintos, comparando la reproducción y el crecimiento de las madres y crías, usando: 1º, la dieta basal con o sin aureomicina; 2º, la dieta basal suplementada con 40 gamas de vitamina B₁₂, con o sin el antibiótico, y, finalmente, una dieta similar, pero en la cual el 25% de la harina de maíz se había reemplazado por caseína, también con o sin aureomicina. Esta última dieta se incluyó en el presente estudio por haberse comprobado que esta modificación del contenido proteico de la dieta de 24 a 40% causa una deficiencia más acentuada en los animales que la reciben sin el suplemento de vitamina B₁₂ (7). En todos los casos, el suplemento de antibiótico consistía de 100 mgs. de clorhidrato de aureomicina "Lederle" por kilogramo de dieta.

RESULTADOS

Los resultados se han resumido en las Tablas Nos. 1 y 2. En el caso de los experimentos con ratones se observa claramente que en ninguno de los tres ensayos había una diferencia significativa entre las series que recibieron una de las dietas con o sin aureomicina. Los animales que consumieron la dieta basal crecieron igualmente bien como los que recibieron la misma dieta suplementada con aureomicina y también el número de crías muertas y de animales que sobrevivieron el tiempo de la lactancia por número de crías nacidas era igual en ambos casos. La adición de 40 gamas de vitamina B₁₂ a esta dieta basal dió por resultado un mejor crecimiento (series 3 y 4), pero tampoco se observó diferencia alguna entre los grupos que recibieron el antibiótico y las que no lo recibieron. Las series 5 y 6 mostraron una mortalidad más elevada y un crecimiento más deficiente de acuerdo con nuestras observaciones anteriores de que el aumento del contenido proteico de dietas pobres en vitamina B₁₂ causa signos de deficiencias más marcadas (7). Sin embargo, ni en este caso se observó ningún efecto beneficioso de la aureomicina dietética.

Los ensayos con ratas dieron resultados parecidos a los obtenidos con ratones. En este caso, la dieta básica adicionada con aureomicina dió un resultado algo mejor que la sin el suplemento, mientras que en los otros experimentos, es decir, usando la dieta suplementada con vitamina B₁₂, y la de caseína, no había diferencia significativa entre los grupos que recibieron el antibiótico y sus controles respectivos.

En estos últimos experimentos se observó otro fenómeno, sobre el cual ya hemos informado en otro trabajo (8): al terminar el experimento y al separar las crías, éstas se alimentaron con la dieta basal sin antibiótico; entre las ratas de las series Nos. 2 y 6 se observó un elevado porcentaje de muertos durante los 15 días después de este cambio de dieta. Del total de 70 animales, únicamente 26 sobrevivieron este lapso. Llama la atención que ni en el grupo que recibió la dieta con aureomicina y vitamina B₁₂, ni en las madres y tampoco en ningún grupo de los ratones se observó mortalidad alguna después del cambio de dieta.

DISCUSION

Los resultados obtenidos por nosotros están opuestos a los de la mayoría de los investigadores, que casi siempre observaron un estímulo del crecimiento en animales alimentados con dietas bajas en vitamina B₁₂ y adicionadas con aureomicina. Pero en ningún caso anterior se había estudiado el crecimiento de animales durante la lactancia, usándose animales ya separados de la madre. Los experimentos publicados se han efectuado con pollos, cochinos, ratas, becerros y ovejas, pero no con ratones. Además, creemos que influye mucho en nuestros resultados el hecho de que trabajamos con animales tenidos por varias generaciones en la misma dieta basal vegetariana y baja en vitamina B₁₂. Posiblemente había cierta adaptación a esta condición de vida que causó el resultado descrito.

De los numerosos autores que han estudiado la influencia de la aureomicina y otros antibióticos bajo condiciones experimentales comparables a las nuestras, algunos obtuvieron resultados parecidos. Así, Speer y Coll observaron, en contraste con muchos otros investigadores, que la aureomicina no estimuló el crecimiento de cochinos y concluyeron que estuvieron trabajando con animales muy sanos, que, por lo tanto, no podían beneficiarse de la acción del antibiótico (9). Otros, trabajando con pollos, tampoco consiguieron observar el efecto beneficioso (10).

Estos resultados en contradicción posiblemente pueden ayudar a aclarar el efecto de los antibióticos sobre el crecimiento. Las dos teorías más discutidas para explicar dicho efecto son: 1ª, la supresión de ciertos gérmenes de la flora intestinal permite a otros productores de la vitamina respectiva un mejor des-

arrollo y, por lo tanto, un aumento de la síntesis intestinal vitamínica. Esta teoría está apoyada por la observación de que las heces de animales alimentados con dietas bajas en vitamina B₁₂, y que contienen aureomicina, contienen más de la vitamina que las de los controles (11). Esto es explicable si hay una síntesis mayor y por la lenta absorción intestinal de esta vitamina. La otra teoría presume que el antibiótico suprime gérmenes dañinos en los animales condicionados por la deficiencia. También para esta tesis hay observaciones que la apoyan: el hecho de que se puede observar bajo ciertas condiciones un estímulo del crecimiento también en la presencia de la vitamina B₁₂ en cantidades óptimas sería explicable así. También ha sido posible demostrar la supresión parcial de la flora intestinal por la acción de la aureomicina (14) y en especial de gérmenes que habitan frecuentemente en el tracto digestivo y posiblemente pueden demorar el crecimiento.

Ambas explicaciones tienen su apoyo experimental y posiblemente pueden existir las dos condiciones que ellos presumen.

En los casos en que el suplemento de la dieta con un antibiótico no da por resultado un mejor desarrollo de los animales experimentales, se puede suponer que la flora intestinal no contiene gérmenes dañinos susceptibles a la acción de éstas en cantidad considerable, y que tampoco se estimula la síntesis intestinal de la vitamina B₁₂ por los posibles cambios en la flora intestinal. Esta última condición puede depender de la composición de esta flora y también de la composición de la dieta, porque, como demostramos recientemente (3), es posible que la composición de la dieta, antes de todo en lo que se refiere a su contenido en cobalto, influye probablemente sobre la síntesis intestinal de la vitamina B₁₂.

Los resultados presentados comprueban de una manera inequívoca que la afirmación hecha en varias ocasiones últimamente (14) de que la aureomicina puede reemplazar a la vitamina B₁₂ es equivocada.

TABLA Nº 1
REPRODUCCION DE RATONES ALIMENTADOS CON DIETAS BAJAS EN VITAMINA B₁₂
CON O SIN AUREOMICINA

Serie	Dieta	Nº de crías nacidas	Nº de crías muertas	Nº de animales sobrevivientes por crías nacidas	Peso medio a edad del destete (en gr.)	Cambio de peso de las madres (en gr.)
1	Control (Basal)	17	1	4,9	13,9 ($\pm 0,481$)	0,27 ($\pm 0,437$)
2	Basal + Aureomicina	17	1	4,9	14,0 ($\pm 0,437$)	-0,73 ($\pm 0,258$)
3	Basal + Vit. B ₁₂	19	2	4,9	15,1 ($\pm 0,208$)	-0,44 ($\pm 0,239$)
4	Basal + Vit. B ₁₂ + Aureomicina	19	2	4,6	14,9 ($\pm 0,196$)	-0,77 ($\pm 0,332$)
5	Basal + Caseína	17	6	2,5	9,9 ($\pm 0,809$)	-1,00 ($\pm 0,716$)
6	Basal + Caseína + Aureomicina	17	4	3,0	8,7 ($\pm 0,596$)	-1,69 ($\pm 0,672$)

() Error standard de los promedios.
 La edad de destete fué de 28 días.

TABLA Nº 2
REPRODUCCION DE RATAS ALIMENTADAS CON DIETAS BAJAS EN VITAMINA B₁₂
CON O SIN AUREOMICINA

Dieta	Nº de crías nacidas	Nº de crías muertas	Nº de animales sobrevivientes por crías nacidas	Peso medio a la edad del destete (en gr.)	Cambio de peso de las madres (en gr.)
Control (Basal)	25	11	2,7	44 (±2,690)	0,29 (±3,254)
Basal + Aureomicina	12	3	3,6	50 (±2,283)	5,89 (±5,283)
Basal + B ₁₂	13	4	3,2	63,6 (±2,689)	22,66 (±4,000)
Basal + B ₁₂ + Aureomicina	14	7	2,2	62,7 (±1,078)	8,12 (±5,580)
Basal + Caseína	12	4	3,3	36,4 (±4,503)	-8,0 (±9,306)
Basal + Caseína + Aureomicina	14	8	1,8	43,7 (±5,162)	-3,66 (±11,122)

() Error standard de los promedios.
 La edad de destete fué de 28 días.

RESUMEN

Se hicieron experimentos con ratones y ratas para estudiar la influencia de un suplemento de aureomicina en una dieta baja en vitamina B₁₂ sobre la reproducción y el crecimiento de las crías. Se estudiaron las siguientes dietas al respecto: basal de soya y maíz y reforzada con vitaminas y minerales; la misma, suplementada con vitamina B₁₂, y una dieta parecida que contenía 25% de caseína, siempre con o sin aureomicina adicionada. No había diferencia ninguna en los ratones entre los animales tenidos con las dietas con o sin el antibiótico y en las ratas las diferencias eran pequeñas y no significantes.

Se discute la posible relación que puede tener este resultado negativo y el cual está en contradicción con las observaciones de la mayoría de los autores que describieron experimentos similares, con el hecho de que los animales usados provinieron de crías tenidas con la dieta basal por, por lo menos, cinco generaciones y que haya habido cierta adaptación. Seguramente, la aureomicina no puede reemplazar a la vitamina B₁₂ bajo todas las condiciones posibles.

SUMMARY

Experiments with mice and rats are reported designed to study the influence of aureomycine supplements in diets low in vitamin B₁₂ on the reproduction and litter growth. Three diets have been studied: Basal, of soy bean and corn, fortified with vitamins and minerals, the same supplemented with 40 ug./kg. of vitamin B₁₂ and a similar diet but which contained 25% of casein, always with and without aureomycine. In mice there was no difference at all between the groups kept on the respective diets with or without aureomycine supplement, and in rats the differences were small.

The possible relation between these negative findings, which contrast with those of many other authors which reported on similar experiments, and the fact that the animals used in the present study were from breeds kept for a least 5 generations on the basal diet, deficient in vitamin B₁₂ is discussed.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird über Versuche mit Mäusen und Ratten berichtet die angestellt wurden, um den Einfluss von Aureomycinzusatz zu Vitamin B₁₂-armen Diäten auf die Fortpflanzung und das Wachstum zu untersuchen. Es wurden 3 Diäten verwendet: die Grunddiät, aus Soya und Maismehl mit Zusätzen von Vitaminen und Mineralien, dieselbe Diät mit Zusatz von Vitamin B₁₂ und eine ähnliche Diät, die aber 25% Kasein enthielt. Alle Diäten wurden mit und ohne Aureomycinzusatz geprüft. In den Versuchen mit Mäusen war keinerlei Unterschied zwischen den Diäten mit oder ohne Antibiotikum festzustellen, bei den Rattenversuchen waren kleine aber nicht signifikante Unterschiede zu beobachten.

Es wird die mögliche Beziehung besprochen, die zwischen diesen negativen Ergebnissen, die im Gegensatz stehen zu den Resultaten der meisten andern Forscher, die ähnliche Versuche angestellt haben, beobachteten und der Tatsache, dass unsere Versuche mit Tieren gemacht wurden, die für wenigstens 5 Generationen mit der Vitamin B₁₂ armen Grunddiät ernährt worden waren, angestellt wurden. Möglicherweise war eine gewisse Anpassung eingetreten; jedenfalls muss die These, dass Aureomycin das Vitamin B₁₂ stets zu ersetzen vermag, zurückgewiesen werden.

BIBLIOGRAFIA

- (1) F. S. Daft y W. H. Sebrell.—Vitamins and Hormones, 3, 49 (1945).
C. A. Elvehjem,—Fed. Proc. 7, 410 (1948).
- (2) H. R. Bird, A. C. Groschke y M. Rubin.—J. Nutr. 37, 215 (1949).
- (3) N. O. Schultze.—Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 75, 53 (1950).
P. R. Moore, H. Evenson, T. D. Luckey, E. McCoy, C. A. Elvehjem
y E. B. Hart.—J. Biol. Chem. 165, 437 (1946).
- (4) E. L. R. Stockstad y T. H. Jukes.—Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 73,
523 (1950).
J. J. Oleson, B. L. Hutchings y A. R. Whitehall.—Arch. Biochem.
29, 334 (1950).
- (5) J. Biely y B. March.—Science 114, 330 (1951).
- (6) Hwa Lih y C. A. Baumann.—J. Nutr. 45, 143 (1951).
- (7) W. G. Jaffé.—Acta Cient. Venez. 2, 78 (1951).
- (8) W. G. Jaffé.—Acta Cient. Venez. 2 (6) (1951).
- (9) V. C. Speer, R. L. Vohs, D. V. Catron, A. M. Maddock y C. C. Culbertson.—Arch. Biochem. 29, 435 (1950).
- (10) H. M. Scott y W. A. Glista.—Poultry Sci. 29, 921 (1950).
- (11) R. L. Davis y B. F. Chow.—Proc. Exptl. Biol. Med. 77, 218 (1951).
- (12) J. M. Sieburth, J. Gutiérrez, J. McGinnis, J. R. Stern y B. H. Schneider.—Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 76, 15 (1951).
- (13) W. G. Jaffé.—Arch. Venez. Nutr. 2, 20 (1951).
- (14) J. Cravioto-Muñoz, H. G. Poncher y H. A. Waisman.—Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 77, 18 (1951).