

## RECIENTES ADQUISICIONES SOBRE LA VITAMINA B<sub>12</sub>

Werner G. Jaffé y O. L. Gómez  
Instituto Nacional de Nutrición

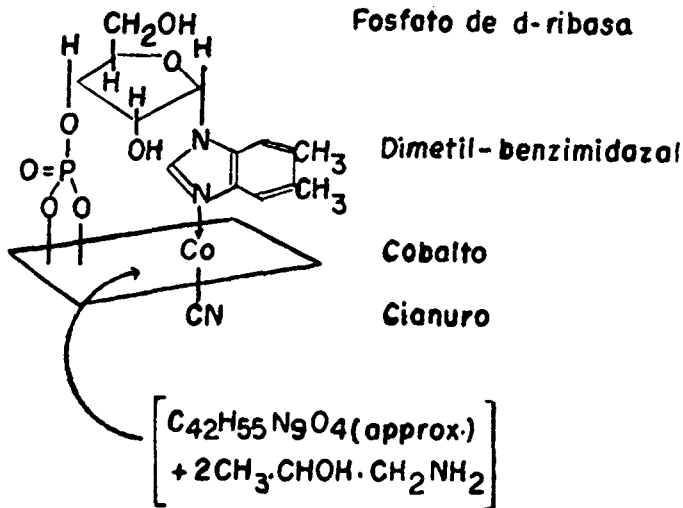
Desde que aparecieron los primeros informes sobre el aislamiento de la vitamina B<sub>12</sub> en 1948, el número de trabajos publicados sobre este nuevo factor es inmenso, debido en gran parte a la facilidad de preparación de la vitamina en cantidades industriales. Aunque el precio absoluto es todavía alto, no es elevado si se considera que las dosis usadas están muy por debajo de la totalidad de las demás vitaminas. Esta accesibilidad ha facilitado mucho las investigaciones clínicas y experimentales, razón por la cual la literatura sobre la materia ya es muy grande y sigue aumentando.

No se puede ni siquiera intentar cubrir esta literatura en el presente artículo, tarea menos importante en vista de la existencia de muchas publicaciones de conjunto (1).

En el presente trabajo trataremos de dar una revisión resumida acerca de la información existente de la importancia bioquímica y nutricional sin entrar en la discusión de la aplicación clínica.

*Estructura química.*—La estructura química exacta de la vitamina B<sub>12</sub> no se ha precisado todavía. Se sabe que contiene un grupo ribo-5-6-dimetil-benzimidazol fosforilizado, un grupo de cianuro y restos de un amino-alcohol y un átomo del metal cobalto. Se ha fijado el nombre químico de "cobalamina" para la vitamina B<sub>12</sub>.

Se conoce hoy en día un cierto número de diferentes sustancias más o menos activas como vitamina B<sub>12</sub> si se ensayan con los métodos microbiológicos o de crecimiento de animales. Algunas de ellas se pueden transformar en la sustancia madre



por tratamiento con cianuros y se diferencian de la vitamina B<sub>12</sub> por el grupo iónico. Otras son posiblemente compuestos combinados de vitamina B<sub>12</sub> con otras sustancias o precursores biológicos de la vitamina.

Los ensayos de vitamina B<sub>12</sub> se hacen generalmente por métodos biológicos o microbiológicos, aunque también se han descrito métodos químicos de considerable sensibilidad. Los primeros se basan sobre el hecho de que ciertos animales (pollos, ratas, etc.) y microorganismos (*lactobacillus leishmanii*, *lactis*, etc., y el flagelado *Euglenia gracilis* y otros) necesitan la vitamina para el crecimiento normal. Si se mantienen con dietas o medios de cultivo deficientes en el factor en discusión, pero completos en todos los demás nutrientes, se observa una relación cuantitativa entre el estímulo del crecimiento causado por suplementos de la vitamina y la dosis de este suplemento.

Desgraciadamente, los resultados obtenidos con los diferentes métodos no concuerdan siempre muy bien, lo que se debe posiblemente a la presencia de diferentes formas de la vitamina con actividades distintas para animales y microorganismos o a factores que puedan reemplazar a la vitamina, como es el caso de algunos nucleósidos, como la timidina, en cuya presencia ciertos lactobacilos pueden crecer sin necesidad de vitamina B<sub>12</sub>, aunque normalmente la requieren. Este

fenómeno puede explicarse posiblemente porque la vitamina interviene en la síntesis de estos cuerpos. Por ejemplo, un estudio sobre vitamina B<sub>12</sub> en alfalfa dió un resultado mucho más alto con un método microbiológico en comparación con un ensayo con pollos (2). También se ha encontrado en heces de ratas y en el contenido del rumen de ovejas evidencia para la existencia de sustancias activas en microorganismos, pero inactivas en animales (3, 4). Por esta razón, el estudio de la distribución de la vitamina B<sub>12</sub> o sustancias de actividad similar en alimentos ha progresado lentamente y los resultados obtenidos por los métodos microbiológicos se deben anotar con cierta cautela.

*Distribución.*—Ya antes de su aislamiento o identificación se notaba que el factor hoy conocido como vitamina B<sub>12</sub> no se encuentra en muchos productos reconocidos como buena fuente del complejo de las vitaminas B, faltando casi por completo en los alimentos vegetales. Por esta razón se le dió el nombre de factor proteico animal, ya que frecuentemente se encuentra asociado a alimentos proteicos de origen animal.

En realidad se ha encontrado que la vitamina B<sub>12</sub> es bastante escasa o ausente en los alimentos de origen vegetal, mientras que se encuentra en cantidades apreciables en productos animales, como hígado, riñón, leche, huevos y carne.

En un estudio con productos vegetales usando un ensayo de crecimiento de la rata obtuvimos resultados negativos con alfalfa, pulitura de arroz, malta y levadura, mientras que el extracto de hígado resultó muy activo (4).

En la siguiente tabla se indican algunos valores de vitamina B<sub>12</sub> publicados por varios autores:

Carnes . . . . .	1-3	microgr./100 gr.
Hígado y riñón . . .	15-20	"
Yema de huevos . . .	1,4	"
Queso . . . . .	1,4	"
Leche . . . . .	0,2-0,4	"
Soya . . . . .	0-0,03	"

Entre los productos más ricos en vitamina B<sub>12</sub> se encuentran los medios de cultivo en los cuales se han desarrollado ciertos microorganismos. Es decir que estos organismos sintetizan la vitamina B<sub>12</sub> y la liberan así que se acumula en el

medio. También se ha podido demostrar que ciertos organismos del suelo producen la vitamina y que ésta, por lo tanto, se encuentra en los suelos y probablemente puede penetrar por las raíces en las plantas. Por esto, en tubérculos y raíces puede encontrarse en mayores concentraciones que en hojas. También los microorganismos de la flora intestinal son capaces de sintetizar vitamina B<sub>12</sub>. En las excretas fecales de ratas y pollos hay cantidades apreciables de la vitamina, aunque la dieta consumida no la contiene. En los rumiantes se conoce una enfermedad causada por una deficiencia de cobalto en el pasto. Esta deficiencia se puede curar por la aplicación oral de sales de cobalto, pero no por la administración parenteral (5); asimismo se cura por un tratamiento con vitamina B<sub>12</sub>. Estas observaciones se explican asumiendo que las bacterias del rumen sintetizan la vitamina siempre que tengan acceso a la cantidad necesaria de cobalto que forma parte de ella. En animales no rumiantes es menos evidente esta acción, pero la logramos en ratas y ratones deficientes en vitamina B<sub>12</sub> (7) y luego Davis y col. la demostraron en pollos (8). Estas observaciones demuestran que la flora intestinal puede producir vitamina B<sub>12</sub> y posiblemente explica cómo pueden subsistir grandes sectores de la población mundial con dietas muy escasas en alimentos de origen animal y, por lo tanto, muy bajos en vitamina B<sub>12</sub>.

Recientemente, Woolley (9) ha publicado estudios con ratones que parecen demostrar que el tejido canceroso es capaz de producir ciertas cantidades de vitamina B<sub>12</sub>, observación que demuestra, si es confirmada, que el tejido canceroso tiene facultades bioquímicas bastante diferentes de las de otros tejidos.

*Requerimientos y absorción.*—No obstante la existencia de cierto número de trabajos acerca de los requerimientos normales de la vitamina B<sub>12</sub>, no hay datos seguros sobre este punto. Una de las razones es la siguiente: no es muy fácil producir la deficiencia de la vitamina B<sub>12</sub> en animales de laboratorio porque, por lo general, tienen reservas acumuladas en sus tejidos, principalmente en hígado y riñón, de manera que pueden subsistir por un tiempo considerable con dietas pobres en la vitamina sin manifestar ningún signo de deficiencia. Aumentando el contenido en proteínas o agregando sustancias tiro-activas a la dieta, se logra una reducción del cre-

cimiento rápidamente, la cual se vence por la aplicación de la vitamina. La mayoría de los estudios experimentales se han llevado a cabo con una de dichas técnicas, aunque éstas no pueden indicar las necesidades fisiológicas por la vitamina bajo condiciones de alimentación normal.

Las proporciones de los requerimientos encontradas con estos métodos oscilan entre 10 y 20 microgramos por cada kilogramo de dieta seca, tanto para ratas como también para pollos, dosis necesaria para lograr un crecimiento normal con dietas altas en proteínas o que contienen proteínas yodadas (10).

En trabajos para estudiar la relación entre la cantidad de la vitamina en la dieta y la fertilidad de los huevos de gallina se encontraron dosis límites más bajas. Ya un suplemento de 2 microgramos por kilogramo de dieta dió por resultado una fertilidad normal, la cual se encontró muy reducida sin esta suplementación (10). Se ha señalado que el *hamster* no necesita la vitamina (11).

Ultimamente hemos estudiado la dosis mínima con ratones y ratas mantenidos durante unas 15 generaciones con dietas deficientes en vitamina B<sub>12</sub>. En los controles negativos se observó una mortalidad de las crías y una reducción del crecimiento de alrededor del 33%. La adición de 3 microgramos por kilogramo de vitamina B<sub>12</sub> a la dieta resultó en una reducción de la rata de mortalidad y en un crecimiento cerca de lo normal (tabla N° 1). Estos ensayos demuestran que la dosis mínima de vitamina B<sub>12</sub> bajo condiciones normales (dietas con 20-25% de proteínas) es probablemente más baja de lo que se había sospechado y, por cierto, la más baja de todas las vitaminas conocidas hasta la fecha. (Los detalles de este estudio serán publicados posteriormente.)

No se conoce la dosis mínima u óptima para humanos. Pacientes con anemia perniciosa se mantienen con un cuadro hematológico normal con dosis parenterales de 4 gama/día (44). Calculando el contenido en vitamina B<sub>12</sub> de una dieta considerada como satisfactoria, se llega a cifras semejantes. Las reservas totales de una persona normal se han calculado en 1.000-2.000 gama (45) y la tasa sanguínea normal es de 0,3 gama/cc. aprox., mientras que se ha considerado el nivel de 0,1 como límite para el funcionamiento normal hematopoyético (44).

También se han efectuado numerosos estudios acerca de la absorción de la vitamina B<sub>12</sub>, problema de interés especial en vista de la poca efectividad de este factor en el tratamiento de la anemia perniciosa si es aplicado por vía oral. La mayoría de los investigadores coinciden en la opinión de que en animales las dosis orales normales tienen aproximadamente el 50% de la efectividad de las parenterales. Ultimamente se ha demostrado que la absorción oral en personas normales guarda estrecha relación con la dosis: si ésta es muy pequeña (0,5 gama) se absorbe el 90%; este porcentaje disminuye al aumentarse la dosis, y si ésta llega a 50 gama, se absorbe únicamente un 3% (43). La utilización de dosis orales es mínima en los pacientes con producción insuficiente del factor intrínseco de Castle, una mucoproteína gástrica, esencial para la absorción normal de la vitamina B<sub>12</sub> por el tracto gastro-intestinal y que falta en la anemia perniciosa.

*Efectos bioquímicos.*—Muy poco se sabe todavía sobre el modo de acción de la cobalamina en el organismo, aunque la literatura sobre este punto está aumentando casi a diario.

El hecho de que ciertos nucleósidos, como la timidina, por ejemplo, pueden reemplazar a la vitamina B<sub>12</sub> en la nutrición de un número de microorganismos, ha dado lugar a muchas hipótesis acerca de la relación entre esta vitamina y la síntesis de nucleósidos y ácidos nucleicos, sin que haya sido posible, hasta la fecha, determinar exactamente el papel jugado por la cobalamina en esta reacción biológica. Entre las reacciones bioquímicas definidas en las cuales se puede demostrar una intervención de la vitamina B<sub>12</sub> *in vitro* o *in vivo*, se pueden citar la reducción de la cistina a cisteína (12) y la transformación de la homocistina a metionina (13). Se ha especulado acerca de la posibilidad de que la homocisteína desempeñe algún papel, no únicamente en la formación de la metionina, sino también en la de purinas, compuestos contenidos en los ácidos nucleicos.

La demostración directa de la existencia de relación entre la vitamina B<sub>12</sub> y el metabolismo de ácidos nucleicos se intentó mediante la determinación de los últimos en órganos de ratas deficientes en la vitamina. Por ejemplo, se encontró una reducción significativa de los ácidos desoxirribonucleicos y ribonucleicos en los hígados de los animales deficientes (14).

Sin embargo, la concentración por número de células quedó constante. Por lo tanto, había una reducción en el número de células causada por la deficiencia vitamínica. Otros autores estudiaron la basofilia de secciones de hígados de ratas deficientes en o tratados con vitamina B<sub>12</sub> y lograron demostrar diferencias muy notables que atribuyeron a distintas cantidades de nucleoproteínas presentes en los tejidos hepáticos de los dos grupos (16). Estudios similares se han hecho también con tejido nervioso (15). La literatura acerca de las interrelaciones entre la vitamina B<sub>12</sub> y la formación de nucleósidos en bacterias es bastante grande y se puede considerar como comprobada la existencia de tal relación.

Desde los primeros estudios biológicos con factores que hoy se conocen como vitaminas B<sub>12</sub> se había observado que una deficiencia en metionina agrava la deficiencia en dicho factor. Mientras tanto, los bioquímicos se han acostumbrado a ver la significancia del aminoácido metionina de igual manera que del factor lipotrópico colina en conexión con los grupos metílicos que tienen estos compuestos. Los grupos metílicos y otros restos de un solo átomo de carbón (grupos formílicos) tienen una importancia especial, porque frecuentemente se observan condiciones en las cuales su abundancia o escasez determina condiciones fisiológicas de una manera muy similar como en el caso de las vitaminas u otros nutrientes esenciales. Sin embargo, estudios recientes (17) han demostrado la síntesis de grupos metílicos u otros de un solo carbón en animales. Lo que aquí interesa es que esta síntesis está condicionada por un suplemento adecuado de ácido fólico y vitamina B<sub>12</sub>.

Se ha comprobado, por ejemplo, que en animales mantenidos con dietas deficientes en colina, la vitamina B<sub>12</sub> ejerce un efecto protector sobre el hígado y riñón (18). De esta manera se explica el efecto lipotrópico que se puede observar con la vitamina B<sub>12</sub>. Utilizando serina marcada con carbón radioactivo o formiato igualmente marcado, se puede demostrar que estos dos ácidos pueden servir como fuentes de grupos metílicos y que para esta acción la presencia de vitamina B<sub>12</sub> es esencial (19). La deficiencia en vitamina B<sub>12</sub> causa un descenso marcado del nivel de glutatión sanguíneo y hepático (41).

*Acción antianémica.*—La acción antianémica de la vitamina B<sub>12</sub>, especialmente en el tratamiento de la anemia per-

niciosa de Addison Bermer, es bien conocida. Lo que se desconoce todavía es el modo de acción de la vitamina en este caso. Posiblemente esté relacionado con el efecto sobre la formación de los ácidos nucleicos, mencionado más adelante. También puede intervenir una actividad sobre la formación de las porfirinas, grupo de sustancias a la cual pertenece la hemina. Se ha demostrado que la concentración de la protoporfirina aumenta con la administración de cobalamina en conejos (20).

Experimentos *in vitro* con cultivos de tejido de médula ósea han demostrado que existe una acción de la vitamina B<sub>12</sub> y del ácido folínico sobre la maduración de los megaloblastos. El ácido folínico es relativamente efectivo en activar la maduración de estas células tenidas en suero de pacientes con anemia perniciosa. La vitamina B<sub>12</sub> es efectiva únicamente en combinación con jugo gástrico (factor intrínseco) (25). Lo más curioso de los resultados del citado trabajo fué la observación que los megaloblastos maduran mucho más fácil si los cultivos se hacen con suero de personas normales que con pacientes con anemia perniciosa. El hecho de que el ácido folínico tiene acción *in vitro*, aunque no existe una deficiencia demostrable de este factor en este tipo de pacientes, da lugar a especulaciones sobre la presencia de factores inhibidores que también se han postulado basándose en otra evidencia (26).

Además de su acción curativa de la anemia, la vitamina B<sub>12</sub> tiene un efecto curativo sobre los síntomas neurológicos en pacientes con anemia perniciosa, muy en contraste con el ácido fólico. Todavía es imposible explicar este efecto en términos bioquímicos, pero se ha comprobado que existe una relación entre la vitamina B<sub>12</sub> y la composición y estructura de ciertos tejidos nerviosos (21), respecto a ácidos nucleicos, proteínas y lípidos. Esta observación está relacionada posiblemente con los efectos ya discutidos de la cobalamina sobre la formación de los ácidos nucleicos, que a su vez están relacionados con la síntesis proteica y con las reacciones de transmetilación, de importancia en el metabolismo graso.

*Interrelación con otras vitaminas.*—La relación entre la vitamina B<sub>12</sub> y el ácido fólico es evidente por la actividad clínica de ambos factores en la anemia perniciosa. No se entrará aquí en las diferencias del valor terapéutico entre am-

bas sustancias; es suficiente recordar que indudablemente existe una analogía bastante marcada entre la acción de una y otra. Para explicar esto se ha pensado en la posibilidad de que la vitamina B<sub>12</sub> esté relacionada con la conversión del ácido fólico a ácido folínico o factor citrovorum, hoy considerado como la forma biológicamente activa del ácido fólico (27). Sin embargo, en pacientes con pernicioso no ha sido posible comprobar una deficiencia de ácido folínico hasta la fecha (22).

El mecanismo de acción bioquímica del ácido folínico está muy probablemente relacionado con la transferencia de los radicales de un solo carbón (grupos metílicos, formílicos, etc.) y así intervienen en la formación de la metionina y de purinas, derivados de los ácidos nucleicos (23). Se ha descrito últimamente un cofermento llamado coenzima F, que cataliza la incorporación de grupos formílicos en el ácido inosínico, un derivado purínico (24).

Así es evidente que los dos factores, ácido folínico y vitamina B<sub>12</sub>, influyen en reacciones bioquímicas relacionadas con metilaciones, aunque no se ha podido fijar exactamente el papel de cada uno en estas relaciones.

También se han observado efectos de la vitamina B<sub>12</sub> que son semejantes a la acción de la vitamina E bajo condiciones comparables. Así, ratas alimentadas con dietas bajas en proteínas y en las dos vitaminas mejoran respecto al crecimiento, como también a la utilización proteica y la resistencia a la intoxicación con tetracloruro de carbón, si se aplica uno de los dos factores: vitamina B<sub>12</sub> o vitamina E (28). Otro efecto de la vitamina E, que tiene un paralelo con la B<sub>12</sub>, es la utilización biológica del caroteno, que se encuentra más reducida en animales deficientes que en los suplementados (29).

La existencia de una relación entre vitamina B<sub>12</sub> y el metabolismo del ácido pantoténico se comprueba por el gran aumento de concentración de la coenzima A hepática en pollos deficientes en vitamina B<sub>12</sub> (37).

*Deficiencia de vitamina B<sub>12</sub>.*—Es un hecho curioso que aunque la vitamina B<sub>12</sub> es reconocida como “el factor anti-pernicioso” no se ha logrado producir una anemia de gravedad en animales experimentales a base de una deficiencia nutricional de dicho factor. En realidad, se sabe desde hace bastante tiempo que la anemia pernicioso no es causada por una simple

deficiencia dietética, sino por disturbios en la absorción y utilización normal del llamado "factor extrínseco" y que estos disturbios se deben a la falta del "factor intrínseco", normalmente producido por la mucosa gástrica. Sin embargo, se podría suponer que una absorción deficiente de una vitamina o su falta en la dieta tuvieran un efecto similar sobre el organismo. Parece que la patogenia de la anemia perniciosa es mucho más complicada todavía de lo que se creía hasta la fecha y que intervienen sustancias inhibitoras (25).

Existen algunas observaciones publicadas acerca de anemias leves como consecuencia del consumo de dietas bajas en vitaminas B<sub>12</sub>. Por ejemplo, Wintrobe y col. han obtenido una anemia leve del tipo normocítico en algunos de los cochinos que alimentaron con dietas bajas en vitamina B<sub>12</sub> (39). También en embriones de pollo se han hecho observaciones acerca de una reducción de los glóbulos rojos, efecto curable por la vitamina B<sub>12</sub>. Sin embargo, estos resultados parecen poco llamativos en vista de que se han descrito efectos comparables con otras vitaminas cuya relación con la hemopoyesis es menos evidente que la de la cobalamina. Un grupo de personas que habían ingerido durante 12-47 años una dieta sin carne y muy pobre en productos animales y que, por lo tanto, debe considerarse como pobre en vitamina B<sub>12</sub>, tenía valores sanguíneos completamente normales (38).

Otros efectos relacionados con una deficiencia simple en vitamina B<sub>12</sub> son: un aumento del peso de los riñones sin la aparición de cambios histológicos importantes (31) y un aumento en el nitrógeno no proteico de la sangre, como también una baja en la tasa de glutatión de los hematíes y una tolerancia anormal a la inyección de glucosa (42).

Los efectos más evidentes de una deficiencia dietética en vitamina B<sub>12</sub> son fallas en la reproducción, lactancia y en el crecimiento de las crías (26). El estudio de la acción de la vitamina B<sub>12</sub> sobre el crecimiento es el método más usado para los trabajos biológicos. Generalmente, las reservas acumuladas por los animales son lo suficientemente grandes para que sigan creciendo con el ritmo normal algún tiempo más o menos largo después de haber empezado a consumir una dieta deficiente en cobalamina. Para acelerar la depleción se pueden usar dietas deficientes y con un contenido alto en proteínas o que contengan proteínas tiroo-activas (27). Con esta técnica

se consigue que los animales crezcan en un ritmo reducido, el cual se normaliza con la aplicación de vitamina B<sub>12</sub>.

También existe un efecto marcado sobre la reproducción. En numerosos estudios, principalmente con ratas, pollos y ratones, se ha demostrado que la falta de vitamina B<sub>12</sub> en la madre produce una alta mortalidad y un retraso en el desarrollo de las crías.

TABLA N° 1

Reproducción de ratas y ratones alimentados por varias generaciones con una dieta deficiente en vitamina B<sub>12</sub> con y sin un suplemento de 3 microgr./kg. de esta vitamina

Dietas	No. de crías en la serie experimental	No. de animales nacidos/cría	Crias muertas	No. de animales destetados/crias	Peso medio a la edad del destete	Animales muertos después del primer día de nacida la cría	Peso medio al nacer	Cambio de peso de las madres
R A T A S								
Deficiente	30	7.6 ± 0.37	9	3.6 ± 0.47	46.7 ± 3.15	0.5	5.4 ± 0.19	+9.1 ± 3.2
Idem más 3 microgr./kg. vit. B <sub>12</sub>	11	8.4 ± 0.60	1	5.4 ± 0.57	59.3 ± 2.00	0	5.8 ± 0.18	+22.5 ± 4.0
R A T O N E S								
Deficiente	32	7.1 ± 0.33	3	4.3 ± 0.33	12.6 ± 0.47	1.0	1.5 ± 0.036	-0.5 ± 0.4
Idem más 3 microgr./kg. vit. B <sub>12</sub>	37	7.5 ± 0.37	0	5.2 ± 0.20	16.9 ± 0.23	0.2	1.4 ± 0.029	-0.3 ± 0.4

En la tabla 1 se presenta el resultado de un experimento para demostrar la diferencia en la reproducción y el crecimiento de las crías entre grupos de ratas y ratones alimentados con dietas que difieren únicamente en su contenido en vitamina B<sub>12</sub>. Estas dietas, cuya composición exacta ha sido publicada (30), se componen de harina de soya sin grasa, harina de maíz, una mezcla de sales, aceite vegetal mezclado con un aceite de hígado de pescado y aceite de gérmenes de trigo y una mezcla de 10 vitaminas del complejo B. Esta ración contiene todos los nutrientes conocidos para ratas en cantidad adecuada, con la única excepción de la vitamina B<sub>12</sub>. Como se ve en la tabla, la mortalidad de las crías es alta (el número de animales que llegan a la edad del destete de 28 días, dividido por el número de crías nacidas, es bajo) y el peso de los animales jóvenes a la edad de cuatro semanas es aproximadamente un 40% por debajo de lo normal. La adición de una pequeña cantidad de vitamina B<sub>12</sub> a la dieta deficiente en este factor tiene por consecuencia la reducción de la mortalidad y el crecimiento normal de las crías.

No obstante el efecto tan evidente de la deficiencia en vitamina B<sub>12</sub> sobre ratas y ratones jóvenes, no se notan signos severos en el estudio hematológico e histológico, atribuibles a esta deficiencia. Hemos mantenido ratones y ratas por seis años y más de 15 generaciones con la dieta deficiente en vitamina B<sub>12</sub>, sin interrupción, siempre logrando la reproducción, aunque con la mortalidad elevada de las crías y el retraso en el crecimiento indicados en la tabla.

En los próximos cuadros se presenta el resumen de los hallazgos hematológicos, inclusive datos sobre el peso relativo del riñón y sobre urea sanguínea en ratas mantenidas con las dietas con o sin el suplemento de vitamina B<sub>12</sub>. Como se notará, todos los valores están dentro de los límites normales, aunque en una de las series los valores de hemoglobina son algo por debajo de los controles y los valores de urea y de los pesos de riñones algo elevados.

TABLA N° 2

Comparación de valores sanguíneos encontrados en grupos de ratas machos adultos mantenidos por toda la vida con dietas con 40 microgramos por kilogramo o sin vitamina B<sub>12</sub>. Se indica el error standard.

	Sin vitamina B <sub>12</sub>	Con vitamina B <sub>12</sub>
Número de animales .	38	16
Sexo . . . . .	machos	machos
Hemoglobina . . . . .	16.1 ± 0.27 gms./100	17.6 ± 0.45 gms./100
Globulos rojos . . . . .	7.073 ± 204 1000/mm. <sup>3</sup>	7.342 ± 267 1000/mm. <sup>3</sup>
Urea sanguínea . . . . .	0.27 ± 0.017 gms./1000	0.24 ± 0.072 gms./1000
Relación peso animal/ peso riñón . . . . .	142 ± 3.0	135 ± 3.0
Glóbulos blancos . . . . .	9.769 ± 585 /mm. <sup>3</sup>	10.856 ± 800 /mm. <sup>3</sup>
Gran. linfocitos . . . . .	8.4 ± 0.89 %	9.2 ± 2.0 %
Peq. linfocitos . . . . .	73.0 ± 7.9 %	69.7 ± 6.0 %
Monocitos . . . . .	4.0 ± 0.43 %	2.2 ± 0.38 %
Eosinófilos . . . . .	2.0 ± 0.39 %	3.1 ± 0.38 %
Bastones . . . . .	0.6 ± 0.012 %	0.5 ± 0.021 %
Neutrófilos . . . . .	14.6 ± 1.45 %	11.8 ± 1.66 %
Anisocitosis moderada.	8	7
Hipocromía (1) . . . . .	4	1

(1) Aunque no se hicieron estudios detallados de la médula ósea, no se observaron diferencias apreciables en ambos grupos ni en cuanto a la riqueza celular ni al tipo de hematopoyesis.

TABLA N° 3

Comparación de valores sanguíneos de dos grupos de ratas machos de 2-3 meses de edad, mantenidos en segunda generación con 40 microgramos por kilogramo o sin vitamina B<sub>12</sub> en la dieta. Se indica el error standard.

	Sin vitamina B <sub>12</sub>	Con vitamina B <sub>12</sub> . .
Número de animales .	36	47
Hemoglobina . . . . .	15.25 ± 0.47 gms. %	14.60 ± 0.31 gms. %
Globulos rojos . . . . .	7407 ± 386 1000/mm. <sup>3</sup>	6893 ± 200 1000/mm. <sup>3</sup>
Hematocrito . . . . .	42 ± 1.1	42 ± 0.75

*Efecto en humanos.*—La acción de la vitamina B<sub>12</sub> como factor hemopoyético es suficientemente conocida para tratarla en esta breve revisión. En vista del efecto evidente de una deficiencia de B<sub>12</sub> sobre el crecimiento de animales, se han efectuado algunos estudios con niños para averiguar si un efecto similar puede ser comprobado en humanos. Para poder apreciar el valor de estos estudios hay que tomar en cuenta que importantes sectores populares consumen dietas que, por su bajo contenido en alimentos de origen animal, son deficientes en esta vitamina. Sin embargo, este tipo de dieta casi siempre es inadecuado en varios otros factores como calcio, proteínas, riboflavina, etc., de modo que es difícil relacionar retrasos de crecimiento o un alto índice de la mortalidad infantil con uno de estos nutrientes aisladamente. Además, no se puede esperar una respuesta satisfactoria en un niño que sufre de una deficiencia compleja al aplicarle uno solo de los factores en déficit; al mejorar el tipo de alimentación por la inclusión de leche u otros alimentos de alto valor se mejora la ingestión de muchos nutrientes y será difícil correlacionar el efecto con uno de ellos. Bajo este punto de vista no es sorprendente si, hasta la fecha, no ha sido posible comprobar, sin lugar a dudas, la existencia de un efecto de la vitamina B<sub>12</sub> sobre el crecimiento de niños, ni tampoco demostrar signos de deficiencia alimenticia en humanos claramente relacionables con una ingestión inadecuada de esta vitamina. Ya anteriormente se mencionó que la anemia perniciosa, aunque curable con la vitamina en discusión, seguramente no debe su etiología a una falta de ésta en los alimentos de los pacientes.

La primera publicación acerca de los posibles efectos de la vitamina B<sub>12</sub> sobre el crecimiento de niños se debe a Wetzel y col. (32). Encontraron un estímulo del desarrollo de 5 niños atrasados de un grupo de 11 tratados con la vitamina. Downing no encontró un efecto similar en un grupo de niños prematuros por la aplicación de vitamina B<sub>12</sub> (33). Igualmente reportan resultados negativos Spies y sus colaboradores trabajando con un grupo de 9 niños (34), mientras que el grupo de Jolliffe (35) informa sobre diferencias estadísticamente significantes al estudiar el crecimiento de niños italianos mal nutridos y comparando subgrupos tratados o no con la vitamina. Finalmente, Scrimshaw y Guzmán (36) se abstienen de sacar conclusiones definitivas de un estudio efectuado en Centro-Amé-

rica acerca del mismo problema; obtienen indicaciones de una acción positiva, pero sin poder lograr diferencias suficientemente grandes para que resulten significativos estadísticamente. No puede sorprender que se hayan obtenido resultados tan contradictorios al considerar las dificultades en este tipo de investigaciones y deben esperarse con interés los resultados que tendrán investigaciones futuras sobre este problema.

### RESUMEN

Se presenta una revisión sobre algunos aspectos químicos y bioquímicos de la vitamina B<sub>12</sub> y se incluyen datos experimentales acerca del efecto de dietas pobres en esta vitamina con o sin la adición de ella sobre la reproducción de ratas y ratones y sobre las características sanguíneas de ratas adultas y jóvenes.

### SUMMARY

A short revision of some of the chemical and biochemical the aspects of vitamin B<sub>12</sub> is presented. Experimental data on the effect of the supplementation of diets low in this vitamin on the reproduction of rats and mice and on the hematological characteristics of adult and young rats are included.

### ZUSAMMENFASSUNG

Es wird eine kurze Übersicht über Chemie und Biochemie von Vitamin B<sub>12</sub> vorgelegt und experimentelle Daten über den Einfluss dieses Vitamins auf die Fortpflanzung von Ratten und Mäusen und auf die Blutcharakteristica von erwachsenen und jungen Ratten eingeschlossen.

## BIBLIOGRAFIA

- (1) a) E. L. Smith.—Nutr. Abstr. Rev. 20, 795 (1950).  
b) C. C. Ungley.—Nutr. Abstr. Rev. 21, 1 (1951).  
c) T. F. Zucker y L. M. Zucker.—Vitamins and Hormones 8, 2 (1950).  
d) T. H. Jukes y E. L. R. Stockstad.—Vitamins and Hormones 9, 1 (1951).  
e) P. Aschkensay-Lelu.—Ann. Nutrit. Alimentation, 7, 67 (1953).
- (2) E. M. Bickhoff, A. L. Livingston y N. S. Snell.—Arch. Biochem. 28, 242 (1950).
- (3) U. J. Lewis, D. V. Tappan y C. A. Elvehjem.—J. Biol. Chem. 94, 539 (1952).
- (4) W. C. Jaffé.—Zeitschr. Vit. Horm. Fermentforsch. 2, 493 (1949).
- (5) Darby.—Science 110, 566 (1949).
- (6) A. L. Pope y P. H. Phillips.—J. Nutr. 48, 431 (1952).
- (7) W. G. Jaffé.—Science 115, 265 (1952).
- (8) R. L. Davis, G. M. Briggs y H. J. Sloan.—Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 82, 175 (1953).
- (9) D. W. Woolley.—Proc. Natl. Acad. Sci. 6 (1953).
- (10) H. Yacowitz, R. F. Miller, L. C. Norris y G. F. Heuser.—Poultry Sci. 31, 89 (1952).
- (11) H. Y. Scheid, P. M. McBride y B. S. Schweigert.—Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 75, 236 (1950).
- (12) J. W. Dubnoff.—Arch. Biochem. 27, 466 (1950).  
C. T. Ling y B. F. Chow.—J. Biol. Chem. 202, 445 (1953).
- (13) J. W. Dubnoff.—Fed. Proc. 10, 178 (1951).  
T. H. Jukes, E. L. R. Stokstad y H. P. Broquist.—Arch. Biochem. 25, 453 (1950).
- (14) I. A. Rose y B. S. Schweigert.—Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 79, 541 (1952).
- (15) W. F. Alexander y B. Baklar.—Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 78, 181 (1951).
- (16) J. R. Stern, M. W. Taylor y W. C. Russel.—Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 70, 551 (1949).
- (17) V. DuVigneau, C. Ressler y J. R. Rachele.—Science 112, 267 (1950).
- (18) A. E. Schaefer, W. D. Salmón y D. R. Strength.—Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 71, 202 (1949).
- (19) M. R. V. Arnstein y A. Neuberger.—Biochem. J. 55, 259 (1953).
- (20) H. Bénard, A. Gajdos y M. Gajdos-Torok.—Le Sang 22, 598 (1951).
- (21) W. F. Alexander.—Nutrition Symposium Series. The National Vitamin Foundation, No. 7, p. 47 (1953).
- (22) A. D. Welch y C. A. Nichol.—Ann. Rev. Biochem. 21, 633 (1952).

- (23) W. G. Verly, J. M. Kinney y V. DuVigneaud.—*J. Biol. Chem.* 196, 19 (1952).
- (24) J. M. Buchanan.—*Abstr. Amer. Chem. Soc.* 119, meeting (1951).
- (25) S. T. Calender y L. G. Lajtha.—*Blood* 6, 1,234 (1951).
- (26) C. C. Ungley.—*Brit. J. Nutr.* 6, 299 (1952).
- (27) V. M. Doctor, J. F. Elam, P. Sparks, C. M. Lyman y J. R. Couch.—*Arch. Biochem. Biophys.* 48, 249 (1954).
- (28) E. L. Hove y J. O. Hardin.—*Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 77, 502 (1951).
- (29) E. G. High y S. S. Wilson.—*J. Nutr.* 50, 203 (1953).
- (30) W. G. Jaffé.—*Arch. Venez. Nutr.* 2, 50 (1952).
- (31) L. M. Zucker y T. F. Zucker.—*Arch. Biochem.* 16, 115 (1948).  
W. G. Jaffé.—*Arch. Biochem.* 27, 464 (1950).
- (32) N. C. Wetzel, W. C. Fargo, I. H. Smith y J. Helikson.—*Science* 110, 651 (1949).
- (33) D. F. Downing.—*Science* 112, 181 (1950).
- (34) T. D. Spies, S. Dreizen, C. Currie y C. A. Buehl.—*Int. Zeitschr. Vitaminforsch.* 23, 414 (1952).
- (35) N. Jolliffe, F. G. Frontali, G. Maggioni, S. Corbo y G. Lanciano.—*Nutr. Symposium Series*, N° 7, p. 119. The National Vitamin Foundation, New York (1953).
- (36) N. S. Scrimshaw y M. A. Guzmán.—*Ibid.* p. 101.
- (37) G. E. Boxer, W. H. Ott y C. E. Shonk.—*Arch. Biochem. Biophys.* 47, 474 (1953).
- (38) L. Mirone.—*Science* 111, 673 (1950).
- (39) G. E. Cartwright, B. Tatting, J. Robinson, N. M. Fellos, F. D. Gunn y M. M. Winthrope.—*Blood* 4, 867 (1951).
- (40) J. M. Hsu, J. R. Stern y J. M. McGinnis.—*Arch. Biochem. Biophys.* 38, 261 (1952).
- (41) U. D. Register.—*J. Biol. Chem.* 206, 705 (1954).
- (42) C. T. Ling y B. F. Chow.—*J. Biol. Chem.* 206, 794 (1954).
- (43) G. B. Jerzy Glass.—L. J. Boyd y L. Stephanson.—*Fed. Proc.* 13, 54 (1954).
- (44) D. L. Mollin y G. I. M. Ross.—*Brit. Med. J.* 1953, p. 640.
- (45) R. H. Girdwood.—*Biochem. J.* p. 58 (1952).