

Contenido de Vitamina B₁₂ en Organos de animales experimentales

WERNER G. JAFFÉ, NINFA INDACOCHEA Y CLARA EMBDEN
Instituto Nacional de Nutrición

La vitamina B₁₂ se almacena en el organismo animal en cantidades considerables, especialmente en riñones e hígado. La determinación de las cantidades presentes en estos órganos permite una mejor apreciación de una posible deficiencia que la que se obtiene con las determinaciones en sangre, ya que la tasa sanguínea se mantiene a un nivel relativamente más constante, posiblemente a expensas de las reservas tisulares. Así, el análisis de la cantidad de vitamina presente en los órganos da una medida de mayor exactitud del grado de deficiencia o el estado de recuperación.

En el presente trabajo analizamos los hígados y riñones de 55 ratas y 18 ratones para estudiar la influencia de diferentes tratamientos dietéticos sobre el almacenamiento de la vitamina B₁₂.

PARTE EXPERIMENTAL

Se usaron ratas y ratones blancos machos de 4-6 meses de edad.

Los animales deficientes en vitamina B₁₂ provenían de una cría mantenida por 9 años con una dieta de harina de soya y maíz reforzada con minerales y vitaminas excepto la B₁₂, cuya composición exacta se ha descrito anteriormente (1).

Como dieta control fué usada una ración comercial para ratas (Ratarina), con un contenido aproximado de vitamina B₁₂ de 30 mcg./kg. Para el análisis, los animales pesados previamente se sacrificaron por un golpe en la base del cráneo, se sacaron rápidamente los hígados y riñones, se eliminó en lo posible la sangre de los órganos; éstos fueron pesados y ho-

mogenizados en un homogenizador tipo "Waring Blendor" con 100 cc. de solución amortiguadora de fosfato-citrato del pH 4.5 y 5 cc. de solución de bisulfito de sodio al 0.5% para 100 cc. de solución problema y luego calentados en el autoclave a 15 lb. por 15 minutos.

La vitamina B₁₂ se determinó por duplicado o triplicado en diluciones convenientes de estas soluciones con *Lactobacillus leichmannii*, usando el método de la U. S. Pharmacopeia ligeramente modificado (2). En algunos casos se determinó también el llamado "blanco estable a álcali", encontrándose siempre valores nulos o trazas. Se hicieron algunos ensayos comparativos con ratones blancos, usando las mismas dietas y técnicas descritas para los experimentos con ratas. En estos últimos experimentos los análisis fueron hechos en la mezcla de los órganos de cada serie en vez de individualmente a cada órgano.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados están resumidos en las tablas 1 y 2. El contenido porcentual de los riñones en vitamina B₁₂ siempre fué mayor que el de los hígados. Las ratas deficientes tenían aproximadamente la décima parte de la vitamina almacenada que los controles (series 1 y 2). La adición de 5 mcg. de vitamina B₁₂ a un kilogramo de la dieta de soya y maíz eliminó completamente los síntomas de deficiencia (3), pero no resultó en un acúmulo de la vitamina comparable al observado con la dieta control o causado por la suplementación de la dieta deficiente con 30 mcg./kg. por el período de un mes (series 3 y 10).

La incorporación de tiroxina o de caseína yodada a dietas deficientes en vitamina B₁₂ acelera la aparición de síntomas de deficiencia, especialmente trastornos en el crecimiento (4). Como se nota en las series 4-6, esta dieta produce un descenso rápido de la vitamina B₁₂ en órganos de ratas que antes se habían alimentado normalmente. Las reservas vitamínicas en hígado y riñón llegaron aproximadamente a la tercera parte de las de los controles en tres semanas, mientras que el consumo de la dieta deficiente en vitamina B₁₂, pero sin caseína yodada, causó pérdidas de aproximadamente la mitad de esta reserva en el mismo lapso (serie 8).

Llama mucho la atención que en ratas deficientes, criadas con la dieta de soya y maíz, la adición de caseína yodada a la dieta no causa un descenso por debajo de los valores por sí ya bajos que acusan estos animales al principio del experimento (series 2 y 7).

La absorción de la vitamina B₁₂ aplicada en la dieta se estudió en las series números 9 y 10, con el resultado de que en el lapso de un mes las reservas tisulares de los animales deficientes se llenaron completamente.

Los resultados presentados en la tabla N° 2 corresponden a ratones machos adultos alimentados con las dietas: control, soya y maíz, y esta última adicionada con 5 mcg./kg. de vitamina B₁₂. Los valores encontrados son más altos que los observados en los grupos correspondientes de ratas. La relación de los valores de los hígados de ratones deficientes en vitamina B₁₂ y los controles es parecida a la observada en ratas; en los riñones se observaron diferencias mucho menores. Mientras que en las ratas los controles tenían 10 veces más vitamina B₁₂ en los riñones que los deficientes, en los ratones esta relación es como 1 a 2.5 aproximadamente.

El hallazgo de cantidades de vitamina B₁₂ en los órganos de ratas y ratones mantenidos durante más de 20 generaciones consecutivas con una dieta de soya y maíz que no contiene cantidades dosificables de esta vitamina se explica probablemente por la síntesis por parte de la flora intestinal. En total, las ratas deficientes tenían aproximadamente 0.37 mcg. de vitamina B₁₂ en hígado y riñones comparado con aproximadamente 5.8 mcg. en los controles.

RESUMEN

Se determinó la vitamina B₁₂ en hígados y riñones de ratas y ratones. En animales criados por más de 20 generaciones con una dieta de soya y maíz y deficiente en vitamina B₁₂ se encontraron valores de 1/10 de los controles.

Ratas normales alimentadas durante 1, 2 ó 3 semanas con la dieta deficiente y adicionada con caseína yodada perdieron las reservas de vitamina B₁₂ más rápidamente que animales alimentados con la dieta deficiente sin caseína yodada. En

ratas deficientes el suplemento de la dieta con caseína yodada no determinó un descenso de la tasa de vitamina B₁₂ tisular.

La ingestión de dietas altas en B₁₂ por un mes causó la acumulación de reservas normales en animales anteriormente deficientes.

Los ratones tienen mayores cantidades de vitamina B₁₂ tisular que las ratas, tanto en el estado normal como también después de haber ingerido la dieta deficiente por más de 20 generaciones.

SUMMARY

Total vitamin B₁₂ has been determined in livers and kidneys of rats and mice. In animals kept for over 20 generations on a B₁₂ deficient soy meal-corn ration the values were about 1/10 th. of the controls.

Normal rats fed for 1, 2 or 3 weeks a deficient diet and supplemented with 0.1% yodized casein lost the tissue reserves more rapidly than others fed a similar diet but without yodized casein. In deficient rats, the addition of this material to the diet did not cause a further drop of the B₁₂ levels in the organs studied.

When diet with 30 mcg. of B₁₂ were fed for 1 month to deficient rats, the levels of this vitamin became normal.

Normal and deficient mice have higher tissue levels of vitamin B₁₂ than rats fed the corresponding diets.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde das gesammte Vitamin B₁₂ in Lebern und Nieren von verschieden ernährten Ratten bestimmt. In für über 20 Generationen auf einer Vitamin B₁₂ armen Soya-Mais-Diät gezüchteten Tieren waren die Werte etwa 1/10 derer der Kontrollen.

Normale Ratten, die für 1, 2 oder 3 Wochen eine B₁₂ Mangel-diät, der 0.1% jodisiertes Kasein zugesetzt war, erhielten, zeigten einen schnelleren Abfall der Organ-B₁₂-Werte als andere, die eine ähnliche Diät ohne jodisiertes Eiweiss bekamen. Wurden Vitamin B₁₂-Mangeltiere mit der tyroxin-aktiven Diät

ernährt, so war kein merklicher Rückgang der vorher schon sehr niedrigen Organwerte in diesem Vitamin festgestellt.

Die Verfütterung von Diäten, die 30 mcg./kg. Vit. B₁₂ enthielten während eines Monats war ausreichend, um normale Organwerte zu bewirken.

Normale und B₁₂-Mangel-Mäuse haben höhere Organwerte als entsprechend ernährte Ratten.

TABLA N° 1

CONTENIDO DE VITAMINA B₁₂ EN HIGADO Y RIÑONES DE RATAS ALIMENTADAS CON DIFERENTES DIETAS

Grupo	N° de animales	Dieta experimental	Tiempo en dieta	Dieta anterior	Vit. B ₁₂ en hígado mcg./g.	Vit. B ₁₂ en riñones mcg./g.	Vit. B ₁₂ total en hígado mcg.	Vit. B ₁₂ total en riñones mcg.	Peso medio de los animales
1	9	Control	Toda la vida	—	0.204 ± 0.016	1.421 ± 0.032	2.18	3.67	297
2	8	Soya, maíz	"	—	0.022 ± 0.002	0.106 ± 0.005	0.19	0.18	269
3	8	íd.+5 mcg./kg. Vit. B ₁₂	"	—	0.040 ± 0.004	0.182 ± 0.022	0.38	0.32	288
4	4	Soya, maíz + 0,1% caseína yodada	1 semana	Control	0.130 ± 0.036	1.057 ± 0.150	1.81	3.14	316
5	4	"	2 "	"	0.091 ± 0.017	0.304 ± 0.027	1.20	0.87	289
6	4	"	3 "	"	0.076 ± 0.008	0.269 ± 0.043	1.01	0.79	280
7	4	"	3 meses	Soya-maíz	0.015 ± 0.001	0.092 ± 0.006	0.16	0.17	186
8	4	Soya, maíz	3 semanas	Control	0.127 ± 0.018	0.488 ± 0.009	1.18	1.06	242
9	4	Control	4 "	Soya-maíz	0.177 ± 0.022	1.129 ± 0.131	1.84	2.05	245
10	6	Soya, maíz 30 mcg./kg. Vit. B ₁₂	4 "	"	0.197 ± 0.029	1.594 ± 0.069	1.92	2.44	186

TABLA N° 2

CONTENIDO DE VITAMINA B₁₂ EN HIGADO Y RIÑONES DE RATONES ALIMENTADOS CON DIFERENTES DIETAS

No.	No. de animales	Dietas	Vitamina B ₁₂ en hígado mcg./g.	Vitamina B ₁₂ en riñones mcg./g.
1	7	Soya y maíz	0.152	0.92
2	6	id. + 5 mcg./kg. Vit. B ₁₂	0.236	1.58
3	6	Control	0.949	2.27

BIBLIOGRAFIA

- (1) W. G. Jaffé. — Arch. Venez. Nutr. 3, 61 (1953).
- (2) C. H. Krieger. — J. Assoc. Offic. Agr. Chem. 37, 781 (1954).