

Oxido - reducciones tisulares en el cobayo normal y escorbútico, acción del ácido ascórbico

POR EL

Dr. A. MUNILIA M. AMORIN y Dr. F. VOGELSINGER

QUÍMICO FARMACÉUTICO

Dadas las conocidas propiedades óxido-reductoras del ácido ascórbico, que han sido estudiadas recientemente por numerosos investigadores (1), hemos planeado algunas experiencias sobre la intensidad de los procesos redoxidantes en los tejidos de animales normales, de animales carenciados en vitaminas C. y el efecto que sobre esos procesos tiene el ácido ascórbico, agregado a la pasta de órgano.

TECNICA

El poder óxido-reductor fué estudiado con la técnica de Lipschitz (2) en la siguiente forma: Grs. 0.50 de tejido finamente picado era introducido en un tubo con un c.c. de solución tampón a ph 7, y 5 c.c. de agua destilada; a cada tubo se agregaba entonces grs. 0.20 de m-dinitrobenzeno purísimo recristalizado (preparado por nosotros por no haberlo conseguido en plaza). En algunas experiencias se agregaban cantidades variables de ácido ascórbico, conservando siempre el mismo volumen. Los tubos se dejaban a la temperatura del laboratorio durante 24 horas y eran agitados frecuentemente. Luego, se centrifugaban los tubos y se tomaba 2 c.c. del líquido claro a lo que se agregaba un volumen igual de alcohol etílico; se filtraba y se comparaban las intensidades de coloración en un colorímetro.

Hemos introducido una modificación en esta técnica al utilizar, para la comparación colorimétrica, el tintómetro de Lovibond: los resultados se expresan entonces en unidades amarillas Lovibond (U. A. L. y a partir de ellos se calculan los porcentajes de variación. La igualdad de colores se obtiene fácilmente con este aparato y dado su fácil manejo, nos parece interesante indicar su utilización.

El ácido ascórbico nos fué cedido gentilmente por la Casa Bayer.

Cuando fué necesario, se dosificó el ácido ascórbico en los tejidos por el Diclorofenolindofenol a ph 2.2.

La dieta escorbutígena empleada se componía de:

Avena molida	50 partes
Caseína	5 "
Afrechillo	43 "
Mezclas de sales de Osborne y Mendel	2 "

Esta dieta nos permite obtener, en cobayos de 300 a 400 gramos y en 25 a 30 días, un cuadro típico en escorbuto experimental, reconocible particularmente por el síndrome hemorrágico universal, que en aquel plazo mata el 100 por ciento de los animales.

RESULTADOS

Desvitaminización de los tejidos de cobayos sometidos a una dieta escorbutígena.

Además de la rica sintomatología clínica, hemos seguido la marcha de la desvitaminización de los tejidos de cobayos sometidos a una dieta libre de vitamina C, docificando el ácido ascórbico tisular por el diclorofenolindofenol. En la tabla N.º 1 damos los valores obtenidos en cobayos normales y en cobayos en distintos períodos de carencia.

TABLA I

Acido ascórbico de órganos de cobayos normales, expresado en mgs. %						
Número	Hígado	Riñón	Músculo	Suprarrenal	Intestino delgado	Intestino grueso
1	26,62	5,75	1,12	93,00	13,50	6,50
2	19,72	7,25	1,00	118,50	21,00	8,50
3	27,00	10,75	1,25	84,00	22,00	8,00
4	22,25	6,37	1,25	119,00	18,62	6,50
5	19,75	7,87	1,37	111,50	12,25	—
Promedios	23,07	7,60	1,20	105,20	17,47	7,87

Ácido ascórbico de órganos de cobayos en períodos variables de carencia de Vitamina C. Expresado en mgs. %
(Cada cifra es el promedio de varios animales)

Días de carencia	Hígado	Riñón	Músculo	Suprarrenal	Intestino delgado	Intestino grueso
2	19,00	7,75	1,25	51,50	8,50	3,50
4	4,12	1,87	0,62	21,00	4,37	2,00
5	4,25	2,62	0,75	13,00	3,37	1,50
7	3,00	1,62	0,70	10,50	2,00	1,12
14	2,37	1,25	0,62	7,50	1,50	0,87
25	2,00	1,05	0,57	6,80	1,35	0,80

Reducción del M—Dinitrobenzeno.

Por tejidos de cobayos normales carenciados.

En la tabla 2, se representan los resultados de las mediciones del poder de reducción del m—dinitrobenzeno por tejido de cobayos normales o sometidos a la carencia: el grado de desvitaminización se controló por determinaciones del ácido ascórbico tisular.

TABLA II

Reducción del m - dinitrobenzeno por tejidos de cobayo expresada en unidades amarillas Lovibond U. A. L.

Cobayos Normales			Cobayos carenciados en C 15 días		
N.º	Músculo	Hígado	N.º	Músculo	Hígado
	U. A. L.	U. A. L.		U. A. L.	U. A. L.
1	6,30	10,50	1	5,20	9,30
2	8,00	12,00	2	8,00	10,10
3	9,10	11,00	3	5,50	8,00
4	9,10	11,00	4	6,00	11,00
5	8,20	15,30	Promedio: 6,17 9,60		
6	5,60	10,20	Diferencia de los tejidos carenciados		
7	9,00	9,30	Músculo = — 22 %		
Promedio: 7,90		11,33	Hígado = — 15 %		

Efecto de la adición del ácido ascórbico sobre la reducción del m - dinitrobenzeno.

Los resultados de estas experiencias están resumidos en la tabla III.

TABLA III

Efecto de la adición de mgrs. 0,6 de ácido ascórbico a tejidos de cobayos normales o carenciados en vitamina C, sobre la reducción del m - dinitrobenzeno, expresada en unidades amarillas Lovibond (U. A. L.).

COBAYOS NORMALES			
Músculo + mgrs. 0'6 ácido ascórbico		Híg. + mgrs. 0'6 ácido ascórbico	
N.º	U. A. L.		U. A. L.
1	8,50		13,40
2	10,70		—
3	10,60		—
4	10,70		—
5	10,40		15,30
6	10,00		12,50
7	13,30		11,00
Promedio: 10,60		13,05	
Aumento: + 34,20 o/o		+ 15,20 o/o	
COBAYOS CARENCIADOS EN C. (15 días)			
Músculo + mgrs. 0'6 ácido ascórbico		Híg. + mgrs. 0'6 ácido ascórbico	
N.º	U. A. L.		U. A. L.
1	7,00		11,40
2	8,00		
Promedio: 7,50		9,60	
Aumento: + 21,50 o/o		+ 0 o/o	

Influencia del ácido ascórbico sobre la reducción del m - dinitrobenzeno por tejidos de animales no sensibles, a la carencia de vitamina C.

Hemos querido ver la marcha de los procesos anteriormente estudiados en los tejidos de cobayos, es decir, de animales que no pueden sintetizar la vitamina C. y que la necesitan imprescindiblemente para su metabolismo, en el caso de animales que no se desvitaminizan y que no hacen accidentes escorbúticos, por prolongado que sea el período de dieta libre de ácido ascórbico.

Para este objeto hemos elegido la rata blanca. Los resultados están dados en la tabla IV.

TABLA IV

Reducción del m-dinitrobenzeno por tejidos de rata blanca normal, expresada en unidades amarillas Lovibond (U. A. L.).

RATAS NORMALES (Promedios)	
Músculo	Hígado
U. A. L. 4,4	U. A. L. 9,8
Adición mgrs. 0,6 de ácido ascórbico	
7,5	13,2
Aumento: + 70 0/0	+ 32,6

Acción del ácido ascórbico adicionado a músculo lavado o calentado a 70° C.

Para completar las experiencias anteriores, hemos trabajado con el siguiente material: a) músculo lavado 5 veces con 10 volúmenes de agua destilada, es decir, eliminando los metabolitos b) músculo calentado a 70° C, es decir, a una temperatura de destrucción de las deshidrogenasas.

Los resultados están dados en la tabla V.

TABLA V

Influencia de la adición de mgrs. 0,6 de ácido ascórbico a músculo de cobayo: intacto, lavado o calentado a 70° C., sobre la reducción del m-dinitrobenzeno, expresado en U. A. L.

MÚSCULO		
Intacto	Lavado	Calentado a 70° C
U. A. L. 6,8 5,3	U. A. L. No hay color No hay color	U. A. L. No hay color No hay color
Músculos adicionado de ácido ascórbico (Mgrs. 0,6)		
9,8 8,8	No hay color No hay color	Trazas de color amarillo No hay color

CONCLUSIONES

1.º — Los cobayos sometidos a una dieta libre de vitamina C se desvitaminizan progresivamente y ésto puede seguirse fácilmente en cada tejido por titulación del ácido ascórbico con el diclorofenolindofenol.

2.º — Los tejidos de cobayos carenciado en vitamina C tienen un poder reductor del m-dinitrobenceno menor que los tejidos de animales normales. — Esta disminución es mayor para el músculo que para el hígado.

3.º — La adición de ácido ascórbico a tejidos de cobayos normales produce aumento de poder reductor, más intenso en el músculo que en el hígado. — En el caso de los cobayos carenciados en vitamina C, este efecto del ácido ascórbico se observa también en el músculo, pero no en el hígado.

4.º — La adición de ácido ascórbico a tejidos de rata blanca produce también aumento de poder reductor, mayor aún que en los cobayos.

5.º — El lavado del músculo, así como el calentamiento a 70º destruye su poder reductor; la adición de ácido ascórbico no modifica este resultado.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) La bibliografía general sobre ácido ascórbico puede encontrarse en los 4 últimos tomos de "Anual Review of Biochemistry".
 - (2) LIPSCHITZ, W. "Pflüger's Arch.", vol. 191.
Otros trabajos nuestros sobre ácido ascórbico:
Archivos de la Soc. de Biología de Montevideo", 1936, VII, N.º 1.
Idem, id., 1936, VII, N.º 3.
Idem, id., 1936, VII, N.º 4.
-