



# Acción de los extractos de hígado sobre el contenido de grasas esteroides y vitamina «A» en el hígado

por

AMERICO S. ALBRIEUX

Médico

y

MARIA L. RODRIGUEZ

Química Farmacéutica

Whipple en 1920-25 demostró la acción beneficiosa del hígado en las anemias post hemorragias experimentales y Minot y Murphy (1) en 1926 encontraron que una dieta con hígado era eficaz en anemia perniciosa. En estos últimos años se ha generalizado el uso de extractos de hígado en las anemias y otras afecciones sin conocer mayormente sus acciones y su composición.

Se sabe que los extractos acuosos de hígado contienen los factores antianémicos primarios y secundarios, el complejo de vitamina "B", minerales y otras sustancias acuosas solubles aun no identificadas. Las seis vitaminas mejor conocidas del complejo "B" que se encuentran en el extracto de hígado y separadas de él en forma cristalina son: B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, ácido nicotínico, ácido pantoténico, piroxidina B<sub>6</sub> y la colina.

Cohn, en 1927 (2) separó la fracción antiperniciosa por fraccionamiento alcohólico y le denominó fracción G.

Por los trabajos de Gavin y Mc Henry (3) sabemos que la vitamina B<sub>1</sub> aumenta el depósito de grasas en animales sometidos a dietas, libre de ellas y que esta síntesis se produce a partir de los hidratos de carbono y no de la proteína, pero si a la dieta se agrega piroxidina la síntesis de grasas se produce a expensas de las proteínas. De manera que la piroxidina es esencial para el metabolismo proteico.

Basados en estos experimentos deseamos conocer el efecto de los extractos de hígado sobre la fracción insaponificable, ácidos grasos, esteroides y vitamina "A" en el hígado de ratas.

MATERIALES Y METODOS. — 120 ratas machos de 100 a 130 grs. de peso, fueron divididos en lotes de 10 animales de los cuales 5 eran inyectados con hígado por vía subcutánea y 5 testigos. Los animales fueron sometidos a una dieta constituida por harina de maíz, (el maíz amarillo contiene abundante cantidad de criptoxanteno) afrechillo, leche desecada, sales y alfalfa fresca. Uno de los lotes fué sometido a una dieta libre de vitamina "A". Este trabajo fué efectuado en el transcurso de un año. Los animales fueron tra-

tados durante diez días con extracto acuoso de hígado en la concentración de 0.25 a 1 U.A., cuando el extracto estaba dosificado en unidades antianémicas, de lo contrario se les inyectará 0.5 c. c.

Al 11º día de iniciado el experimento los animales eran sacrificados y los hígados extraídos y tratados de la manera siguiente: Se trituran y se colocan en un matraz tarado en el que se añade por hígado 75 c.c. de KOH al 60 % y se calientan al baño maría durante 45 minutos, se sacan del baño, se añaden 75 c.c. de alcohol de 95 grados, se adjunta un refrigerante a reflujo y se calienta una hora.

Se evapora el alcohol y se agrega  $\text{SO}_4\text{H}^2$  al 40 % hasta reacción ácida al tornasol, se enfría y se añaden 125 c.c. de éter de petróleo y agua hasta un volumen de 1000 c.c. Se agita la mezcla y luego se deja en el frío durante toda la noche.

En el éter de petróleo se realizan las dosificaciones de fracción insaponificables, ácidos grasos, esteroides y vitamina "A".

Las dosificación de la fracción insaponificable se realiza sobre 50 c.c. de éter de petróleo, se evapora y luego se deja toda la noche en el desecador, el residuo, la fracción insaponificable y ácidos grasos. Los ácidos grasos se valoran con  $\text{NaH N}/10$  y los resultados se expresan en ácidos oleico.

Los esteroides se dosifican por el método colorimétrico utilizando la reacción de Lieberman y comparando los resultados con una escala preparada a partir de una solución de colesteroína al 1 %.

La vitamina "A" por el método colorimétrico de Broklemann y Tuklemberg. Los resultados obtenidos se aprecian en el cuadro adjunto.

Lote	Peso	Hígado %	Dosis de hígado	Fracción insapon.	Ac. gras.	Esteroides	Vit. A
T	109.5	3.65		3.57	2.32	0.32	178.1
A	102.5	4.19	0.5 c.c.	3.34	2.56	0.41	3352
S	106.5	4.34	0.5 c.c.	3.29	2.39	0.47	5730
A	102.5	4.45	0.5U.	3.54	3.32	0.42	6480
T	113	4.27		2.58	2.01	0.25	—
T	100.2	5.02		2.53	1.88	0.19	1970
W	109.4	5.12	0.5U.	2779	2.17	0.26	1397
A	123	4.21	0.5U.	3.46	2.30	0.33	5062
T	140	4.2		3.70	3.17	0.46	5817
H	133	4.6	0.5 c.c.	3.00	2.30	0.48	4755
A	126	4.4	0.5U.	3.29	2.61	0.46	7959
L	145	4.5	0.5U.	3.87	2.30	0.56	9494
T	120	5.6		4.39	3.11	0.37	15612
L	135	5.4	0.5U.	3.24	3.32	0.35	11723
T	115	4.4		2.90	2.71	0.24	2825
L	127	4.6	0.5U.	2.42	1.64	0.21	1663
T	120	5.0		2.84	2.11	—	1633
W	124	4.4	0.25U.	3.36	2.51	—	1960
T	—	—		2.38	1.61	—	5297
Ab	—	—	0.5U.	3.00	2.38	—	7141

T. testigo D S A W H L Ab diferentes extractos de hígado empleados.

## RESULTADOS Y COMENTARIOS

Aunque siempre se utilizaron extractos de hígado libres de vitamina B<sub>1</sub> agregada (por lo menos declarada) se la encontró estar presente en la mayoría de los extractos utilizados, así como la B<sub>2</sub> y el ácido nicotínico, es de pensar que todo el complejo "B" se encuentre, y como en los trabajos Mc Henry y Gavin (4 - 5) él sería el responsable del aumento de grasas (fracción insaponificable y ácidos grasos) y quizás de los esteroides. Otro hecho merece destacar, es el aumento de vitamina "A", o mejor, de sustancias que dan la reacción de Carr-Price.

La dieta a la que fueron sometidos los animales era rica en carotenos. Los carotenos se acumulan en el hígado donde por la influencia de la carotenasa se transforma en vitamina "A". Por otra parte la rata es el animal que tiene más facilidad en transformar las provitaminas en vitamina A. (5). Adler y Schipp (6), Gerhardt Klein (7), encontraron que los sujetos tratados con extractos hepáticos experimentan un aumento de la coleserinemia.

Estos resultados han sido confirmados en el laboratorio y en la clínica por Morañón y Collazo (8), Lineweh (9), encuentran que la vitamina A refuerza la acción del extracto hepático. Por otra parte, en la anemia perniciosa existe una disminución de la carotina y de la vitamina A.

Pero los extractos de hígado libres de vitamina A, tan eficaces en la anemia perniciosa no aumentan en el suero la Vitamina A, aunque el resultado de nuestras experiencias demuestran que aumentan en el hígado.

No creo que exista en el extracto hepático alguna sustancia que actuara de una manera similar al dibenzantraceno o el metilcolantraceno que movilizan la vitamina del hígado y la acumulan en otros órganos como el riñón. Cuando la dieta estuvo libre de vitamina A la concentración de vitamina en el hígado fué inferior en los animales tratados que en los testigos.

Esto demuestra que la vitamina A, que se acumula es de origen exógeno alimenticio y no de los extractos. No existe base para sostener que tal o cual principio del hígado sea el responsable de la acumulación de vitamina A en el hígado, pues extractos muy purificados como el hígado L, ricos en el principio antianémico, se mostraron muy activos.

Poco conocemos sobre el principio antianémico, sabemos que se acumula principalmente en el hígado, en parte en forma libre y en parte unido a las proteínas, que resulta de la unión de un factor extrínseco o de un factor intrínseco segregado por la mucosa gástrica. El primero se encuentra en los alimentos y sobre todo en aquellos ricos en vitamina B; pero no es idéntico a ella.

Sin embargo, M. M. Winthoe (10) encuentra que levadura de cerveza seca es efectiva en los anémicos perniciosos. Este factor extrínseco sería para algunos autores una vitamina, la vitamina M.

aunque en los animales no se ha podido reproducir la anemia perniciosa, pero en los monos ha sido posible producir una anemia macrocítica hiperocrómica cuando son sometidos a una dieta que contienen todos los factores a excepción de esta vitamina M. (11-12). Esta vitamina se encuentra en la levadura y en el hígado, sería un miembro del complejo B.

Investigaciones hormonales de antrógenos y estrógenos fueron negativos.

RESUMEN. — Animales tratados con diferentes extractos de hígado muestran la mayoría de los lotes un aumento de los ácidos grasos, de los esteroides y de la vitamina A.

El aumento de los ácidos grasos y esteroides sería el resultado de la acción del complejo B. El aumento de la vitamina A podría responder a una acción estimulante en la absorción de las carotenos y su transformación y acumulación en el hígado bajo la influencia de los extractos de hígado.

Estos experimentos dan base para pensar en uno de los mecanismos de acción de los extractos de hígado, otro que no sea su acción sobre la médula ósea en la anemia perniciosa.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1) Minot and Murphy. — J. A. M. A., 87; 470-476; 1926.
- 2) Cohn y Col. — J. Biol. Chem., LXIX, 74, 1927:
- 3) Gavin, G. and E. W. Mc: Henry: — J: Biol: Chem: 41, 132; 1940:
- 4) Mc. Henry and G. Gavin. — J: Biol: Chem:, 138, 471; 1941:
- 5) Ahmand, B. and K. Malik. — Indian J: Med: — Research 20, 1033; 1933:
- 6) Addler und Schiff. — Dtsch. Arch. f. Klin. Med. 161, 282; 1928.
- 7) Gerhardt und Klein. — Klin. Woch. 13, 494; 1933.
- 8) Marañón, G. y Collazo, J. A. — An. de Med. Int., tomo III, 9, 843; 1934
- 9) Lineweh. — Med. Klin. Nº 14, 1936.
- 10) Winthoe, M. M. — Am. J. M. Sc., 197, 286; 1939
- 11) Day, P. L. W. C. Langstony, W., Darly P. S. E: B: and Med:, 38, 860; 1938:
- 12) Day, P. L. — And coworker s. J. Exp. Med. 68, 9231; 1938.

Los autores agradecen al Prof. J. C. Chiarino, por su colaboración en este trabajo.