

Tesis de Posgrado

Contribución al estudio del contenido de vitamina A y caroteno en sangre

Benedetto, Antonia M.

1947

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Química de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Benedetto, Antonia M.. (1947). Contribución al estudio del contenido de vitamina A y caroteno en sangre. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0477_Benedetto.pdf

Cita tipo Chicago:

Benedetto, Antonia M.. "Contribución al estudio del contenido de vitamina A y caroteno en sangre". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1947. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0477_Benedetto.pdf

Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

CONTRIBUCION AL ESTUDIO DEL CONTENIDO
DE VITAMINA "A" Y CAROTENO EN SANGRE

Tesis presentada por
ANTONIA M. BENEDETTO
para optar al título de Doctor en Química

V. 3º
Alfaro
Tesis 477
Mayo 29-1947

Buenos Aires
1947

Dejo constancia de mi reconocimiento al Director General del Instituto Nacional de la Nutrición Prof. Dr. Pedro Escudero y al Director Interino Prof. Dr. Enrique Pierangeli, por haber permitido que este trabajo fuera realizado en los laboratorios del Instituto, donde he contado con el material y aparatos necesarios para su realización.

Agradezco también al Dr. Ventura Morera el acompañarme en la presentación de este trabajo, así como al Dr. Jorge Mendive por la lectura de los originales y su opinión crítica al respecto.

FEFNA

CONTRIBUCION AL ESTUDIO DEL CONTENIDO DE VITAMINA "A" Y CAROTENO EN SANGRE

Introduccion

El estado nutritivo del ser humano depende de una cantidad de factores que se relacionan mutuamente y que en conjunto contribuyen a mantener en el plasma intercelular una composición química y un estado fisico-químico adecuado para la nutrición de los tejidos. La sangre como vehículo tanto de elementos nutritivos como de sustancias residuales del metabolismo tisural puede presentar en su composición cambios que pueden ser tomados como índice del estado nutritivo del organismo. Entre los elementos estudiados con este objeto en la sangre está la vitamina A y sus precursores el caroteno y carotenoides. Respecto a la relación existente entre la riqueza de vitamina y provitamina A de la sangre y el estado de las reservas de esta vitamina no existe aun acuerdo entre los diferentes investigadores, así:

Popper y Greenberg en 1941 (1) y Popper y Brenner 1942 (2) demostraron en ratas, que no habia paralelismo entre la cantidad de vitamina A depositada en el hígado y el contenido de vitamina A de la sangre; sacaban como conclusión por ello que la determinación de vitamina A en la sangre no era índice del estado de las reservas de esta vitamina.

Julian M. Ruffin, David Cayer y W.A. Perzweig 1944 (3), dicen por el contrario: parece existir una relación definida entre el cua

FCEPNA

dro clínico de las deficiencias leves o precoces de vitamina A y las determinaciones de vitamina en el laboratorio, hecho que no es ta de acuerdo con lo afirmado por Wesley 1940 (4); Nylund y Col 1941 (5).

Estas diferencias de opinión hacen aún mas interesantes las investigaciones sobre el tema, que según hemos visto dista mucho de poderse considerar aclarado (5),(6),(7),(8),(9). Por este motivo se consideró que podría presentar interés el estudio de las técnicas de medición del caroteno y vitamina A en sangre y su aplicación a la determinación, en nuestro ambiente, de la cantidad de vitamina A y caroteno de la sangre en personas consideradas sanas, tema que ha sido objeto de ésta tesis, ya que en el país no hemos encontrado de terminaciones anteriores de esta indole.

METODOS PARA MEDIR VITAMINA A EN SANGRE

Para la medición de la vitamina A de la sangre pueden aplicarse todos los métodos de medición de vitamina A, ya que el contenido habitual de vitamina A en la sangre es casi siempre superior a 20 γ /100 ml de suero.

METODOS BIOLOGICOS:

El método biológico de crecimiento de vitamina A, fué descrito en el año 1920 (10).

El método curativo de crecimiento dado como oficial en la Farmacopea de los EE.UU. (11), puede ser aplicado a la sangre, ya que las cantidades diarias de vitamina A que es necesario agregar como complemento de la dieta carente de vitaminas, varia entre 0,5 y 2 U.I. de vitamina A, es decir aproximadamente 0,1 a 0,5 γ de vitamina A, cantidad que puede ser administrada por 0,5 a 2 ml de suero que puede hacerse ingerir facilmente por los animales en estudio.

Este método tiene las siguientes desventajas:

- a) su duración que es superior a 45 días;
- b) la dificultad de conseguir animales con reservas de vitamina A suficientemente bajas como para caer en avitaminosis A en el periodo requerido por el método; y
- c) el trabajo que es superior al de cualquier método químico.

Además, por este método se determina unicamente la potencia de vitamina A del suero englobando conjuntamente la vitamina A preformada y el caroteno existente en él. Lo que carece de valor porque el contenido de caroteno de la sangre es muy variable y directamente relacionado con la alimentación ingerida en los días anteriores a la determinación (12), (13), (14).

Por estos motivos, los métodos biológicos se han aplicado en

muy pequeña escala para la medición de vitamina A y caroteno, reservándose únicamente como control de los métodos químicos.

MÉTODOS QUÍMICOS Y FÍSICOS:

La medición de vitamina A en la sangre se realiza en dos tiempos:

- 1º Extracción y purificación de la vitamina A contenida en suero o plasma.
- 2º Determinación propiamente dicha de la vitamina A en el extracto purificado.

MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE LA VITAMINA "A":

En los métodos de extracción y purificación, se pueden hacer dos divisiones fundamentales:

- 1º los que extraen el caroteno y la vitamina A sin saponificación previa.
- 2º los que saponifican con potasa los lípidos contenidos en el suero, extrayendo la vitamina A y el caroteno juntamente con la fracción insaponificable del mismo.

Entre los primeros tenemos las técnicas descritas por diversos autores: así Clausen y Mac Coord (15) extraen el suero con una mezcla de etanol y éter de petróleo; Ferguson (16) hace la extracción con éter de petróleo y en el extracto etéreo determina espectro-fotométricamente los carotenoides, ya que en estas condiciones los pigmentos biliares no se extraen. Prácticamente se considera que esta cifra representa una mezcla a partes iguales de caroteno y xantofila inactiva. La vitamina A se determina por la reacción de Carr y Price (17); Kimble, Madison (18), extraen el plasma sanguíneo con alcohol y éter de petróleo, los pigmentos pasan al alcohol y el caroteno y la vitamina A va directamente a la capa bencénica.

En estas condiciones la determinación de la vitamina A está condicionada por el pH del suero, ya que según las investigaciones de algunos autores (19), la extracción de caroteno y vitamina A del plasma aumenta bajando el pH, hasta alcanzar la máxima extracción a pH 4,5.

Entre los segundos, que hidrolizan la sangre y determinan la vitamina A en la fracción no saponificable, tenemos diferentes autores: Chevalier, Choron y Matheron (20), hidrolizan la sangre y en la fracción no saponificable determinan espectrofotométricamente la vitamina A; Moore (21); Van Eekelen y Emerie (22); Messner, Ardao y Lussich (23), estos investigadores hacen una saponificación previa del suero y extraen con eter sulfúrico, determinando la vitamina A por aplicación de la espectofotometría a la reacción de Carr y Price.

MÉTODOS PARA DETERMINAR LA VITAMINA "A".

Una vez obtenido el extracto de vitamina A, la medición del caroteno se realiza generalmente por colorimetría; bien por colorimetría comparando con una solución standard de caroteno; o bien con una solución de azobenceno de concentración conocida (24); o una solución de bicromato de potasio al 0,1 % (25); o bien por espectrofotometría determinando la absorción de la luz de la solución en una zona del espectro de determinada longitud de onda (450 m μ).

Las reacciones colorimétricas de vitamina A fueron descritas en el año 1920 (26), relacionando la coloración que producía el aceite de hígado de bacalao cuando se le agregaba ácido sulfúrico concentrado.

En el año 1926 (17) Carr y Price describen la reacción del tricloruro de antimonio que aún sigue usándose en la actualidad. La intensidad del color azul que se desarrolla en la reacción de la vitamina A y el tricloruro de antimonio, puede determinarse; bien por colorimetría, comparando con vidrios de coloración conocida como en el tintómetro de Lovibond (27) (observación visual o fotoeléctrica) (28); o comparando con standard de sulfato de cobre (29): bien basándose en el hecho que el compuesto formado por el tricloruro de antimonio y la vitamina A presenta dos bandas de absorción con máximos en 606 y 572 m μ (30), con el empleo del fotómetro de Pulfrich, como lo hacen Messner, Ardao y Lussich (23); o bien con el empleo de fotocolorímetros; colorímetro fotoeléctrico como lo hacen Dan y Evelyn (31), Koehn y Sherman (32), Kimble (18). Los métodos espectrofotométricos de medición de vitamina A se basan en el hecho descrito en el año 1925 por Takahshi de que un con centrado de vitamina A mostraba una absorción selectiva en los 320 m μ del espectro (33).

Posteriormente se encontró que la mayor absorción se produce a los 328 m μ (34).

Esta propiedad de la vitamina A ha sido también aplicada para la medición de la vitamina A en la sangre. La dificultad del manejo de los espectrofotómetros hizo que Adam Hilger (35) en el año 1933 ideara un aparato que se usa también para medir vitamina A en san- gre.

Otros autores (20) han utilizado para medir la vitamina A en el suero, la determinación de la cantidad de material destruido por la luz ultravioleta. Se basa en el hecho que la irradiación con luz

monocromática 365 m μ produce un cambio específico en el máximo de absorción de la vitamina A del que se puede calcular la cantidad de vitamina A presente en la solución.

De los métodos anteriormente citados hemos elegido para la extracción de la vitamina A y el caroteno la técnica de Moore (21) aplicada a la sangre por Van Eekelen y Emmerie (22), seguida de la determinación colorimétrica del caroteno, la vitamina A se midió empleando la reacción de Carr y Price. Esta técnica fué elegida por ser la empleada por la mayor parte de los investigadores que han trabajado sobre el tema (23), (6), (7), (36), (37), (38), (39), y ajustarse a nuestras posibilidades de trabajo.

La técnica usada en este trabajo se da en detalle a continuación.

METODO USADO PARA LA DETERMINACIÓN:

VITAMINA "A" Y CAROTENO EN LA SANGRE:

Se siguió la descripción del método hecha por Messner, E. Ardao, M.I. y Lussich JJ. (23), para la determinación cuantitativa de la vitamina A de la sangre.

El método se basa en la aplicación de la espectrofotometría a la reacción de Carr y Price. Consiste en lo siguiente: extracción por eter sulfúrico, previa saponificación del suero según la técnica de Moore (21), aplicada a la sangre por Van Eekelen y Emmerie(22)

Se determinó al mismo tiempo la cantidad de carotenoides por espectrofotometría del extracto.

La medida de las extinciones para ambas determinaciones se hizo con el fotómetro de Phlfrich, como ya lo hicieran Julius y Woolf (40).

REACTIVOS NECESARIOS:

- 1). Hidróxido de potasio al 60% solución acuosa.
- 2). Hidróxido de potasio al 3% " "
- 3). Alcohol etílico 96°
- 4). Eter sulfúrico (libre de peróxidos).
- 5). Sulfato de sodio anhidro.
- 6). Cloroformo (destilado y seco).
- 7). Tricloruro de antimonio.
- 8). Anhídrido acético.

TECNICA:

Se obtiene la muestra de sangre por punción venosa. Una vez separado el suero se procede así;

De 5 a 10 ml de suero, se saponifican con 0,5 a 1 ml de potasa cáustica acuosa al 60%, durante 1 hora, a baño-maria o micromechero, se enfria, se agregan 5 ml de alcohol etílico y se extrae en una ampolla de decantación (75 ml) tres veces con porciones de 15 ml de eter sulfúrico (libre de peróxido).

Los extractos etereos se reunen en otra ampolla de decantación y se lavan 2 veces con porciones de 10 ml de agua destilada, luego con 10 ml de solución acuosa de hidróxido de potasio al 3%, por último 3 o 4 veces con porciones de 20 a 25 ml de agua destilada, hagta reacción negativa de álcali al papel de tornasol.

Se deja la solución eterea con sulfato de sodio anhidro, en atmosfera de nitrógeno y en la oscuridad hasta el dia siguiente.

Entonces se filtra y se evapora en corriente de nitrógeno a una temperatura de 40-50°. Se toma el residuo con cloroformo anhidro llevando a un volumen de 3,2 ml en una cubeta de 1 cm de espesor,

perfectamente seca.

Se hace la lectura en el fotómetro de Pulfrich, utilizando el filtro de S.43 (434μ) y poniendo en la cubeta de compensación el mismo cloroformo que sirve de disolvente.

Esta lectura nos permite calcular el caroteno.

Luego se coloca la cubeta envuelta en papel negro dentro de un desecador con cloruro de calcio y se evapora cuidadosamente la solución cloroformica en corriente de nitrógeno a unos 40° mas o menos. Esta evaporación se realiza en unos 15 a 20 minutos.

Una vez terminada la evaporación, se toma el residuo con 0,2 ml de cloroformo seco lavando con ellos cuidadosamente las paredes de la cubeta y tratando de que todo pase a la solución. Se agrega una gota de anhídrido acético y se efectua la reacción de Carr y Price sobre la cubeta colocada en el fotómetro.

Mientras un operador agrega en la cubeta 2 ml de reactivo de Carr y Price (solución saturada de tricoloruro de antimonio) con una pipeta de caída rápida y agita inmediatamente el contenido de la cubeta con un alambre de platino, otro efectúa la lectura con filtro S.61 (619μ) en los primeros 5 segundos luego de agregar el tricloruro, sin tener en cuenta un aumento más tardío de la extinción (caroteno).

En la cubeta de compensación colocamos cloroformo.

Empleamos de 5 a 10 ml de suero, porque la mayoría de los casos con volúmenes comprendidos entre estos límites se alcanza la concentración requerida para que la extinción leída se halle entre 0,2 y 1,3. Las extinciones fuera de los límites señalados no se pueden determinar con una precisión satisfactoria.

FOTOMETRO DE PULFRICH (41)- (42)

Principio:

El aparato consiste en una fuente de luz única que emite dos rayos paralelos de igual intensidad. Uno de los rayos pasa por la solución cuya absorción se quiere medir. Este rayo luminoso sufre una disminución en su intensidad, que depende de la concentración de la solución. El otro rayo luminoso atraviesa un espesor igual de una solución de compensación. En el trayecto de este rayo luminoso, o en el de los dos, existe un sistema mecánico que permite reducir la entrada de luz hasta igualarla con la que ha pasado por el sistema absorbente y que mide la reducción de la intensidad luminosa del rayo inicial, es decir, mide la extinción E . Los dos haces luminosos se concentran sobre un ocular común, que permite la comparación de las intensidades de ambos rayos, previo pasaje por filtros de transparencia conocida.

DESCRIPCION Y MANEJO DEL APARATO:

El fotómetro de Pulfrich consta de dos anteojos paralelos con un ocular común. Detrás del ocular se encuentra un mecanismo que permite interponer en la marcha de los rayos, una serie de filtros coloreados. El campo visual queda dividido en dos porciones semicirculares, separadas por una línea vertical, cada una de las cuales corresponde a un anteojo.

El mecanismo de medida consiste en dos tambores idénticos colocados en las aberturas de los anteojos y que permiten modificar de modo medible la claridad del correspondiente campo visual. La graduación de los tambores está hecha de modo que se obtenga aproximadamente la misma precisión porcentual cualquiera sea el poder absor-

bente del líquido ensayado. Delante de los anteojos se encuentran sendas portacubetas, cada una de las cuales lleva un vaso de vidrio (cubeta) con ventanas soldadas. En una de las cubetas se coloca la solución problema y en la otra la solución de compensación.

Para hacer las mediciones se deben tener en cuenta ciertas observaciones:

La habitación donde está instalado el fotómetro, debe ser un cuarto oscuro, o bien, iluminado con luz difusa no muy intensa, pues el ojo es más sensible a la percepción de las intensidades luminosas cuando recibe excitaciones directas muy intensas.

La luz del aparato debe estar correctamente centrada.

Las cubas a utilizarse deben estar perfectamente limpias y se enjuagan con la misma solución a medir, se coloca en el portacubas de la izquierda del aparato. La cuba que contiene el líquido de compensación se coloca en el portacubas de la derecha. Estos líquidos no deben tener partículas en suspensión.

Se interpone en el trayecto del rayo luminoso el filtro correspondiente, haciendo girar el disco portafiltros.

Se enfoca el ocular de modo que la línea de separación de los dos campos sea nítida.

Se coloca el tambor de la izquierda, es decir donde está la solución cuya extinción se quiere medir, en su máxima abertura o sea en el 100 de la escala negra.

Observando por el ocular, y manteniendo la cabeza en la posición mas cómoda para la observación, se mueve el tambor de medida de la derecha, lenta y regularmente hasta igualar las intensidades luminosas de los dos semicírculos, se lee el valor obtenido sobre

dicho tambor. Se repite la operación invirtiendo el sentido de rotación del tambor y se hace una nueva lectura. Se hacen por lo menor cinco lecturas y se saca el promedio de las mismas. Se tiene un valor T (transparencia) que transformamos en extinción E mediante la tabla de valores.

Para el cálculo de caroteno empleamos el coeficiente de extinción $E \frac{1\%}{1\text{cm}} = 2106$ a la longitud de onda 430μ dado por Linquist (43) para la mezcla de los tres carotenos.

Para la reacción de Carr y Price de la vitamina A el coeficiente dado por Brower, Meyknecht y Dijkstra (44) es $E \frac{1\%}{1\text{cm}} = 4200$ a 610μ .

DISTRIBUCION DE LA VITAMINA "A" Y CAROTENO EN LA SANGRE

Con el objeto de determinar si la medición del contenido de vitamina A de la sangre debiera realizarse sobre suero, plasma o sangre total se hicieron una serie de determinaciones destinadas a establecer en que proporción se distribuye ésta vitamina entre los diferentes integrantes de la sangre.

Con este objeto en siete individuos en estudio se determinó paralelamente el contenido de caroteno y vitamina A del suero y el contenido de caroteno y vitamina A de la sangre total.

La técnica seguida es la descrita en la parte de métodos (23)

CUADRO N° 1

Sujeto	Edad	Peso kg	Talla m.	Suero		Sangre total	
				Caro- teno γ/100ml	Vit.A. γ/100 ml	Caro- teno γ/100ml	Vit.A. γ/100 ml
F: 22633	61	94.5	1.73	183	60	84	36
F: 63430	46	60.0	1.70	107	44	57	22
F: 54421	52	64.0	1.55	151	52	72	34
F: 18314	--	66.6	1.63	274	61	130	32
F: 65584	55	57.0		186	49	82	21
F: 62172	41	57.0	1.68	262	69	149	35
F: 65474	36	59.0	1.78	146	40	70	22

Las cifras obtenidas en el cuadro n° 1, indican que la sangre total contiene por 100 ml aproximadamente la mitad de caroteno y vitamina A del suero, lo que parecería indicar que los glóbulos rojos se encuentran desprovistos de vitamina A. Hecho que ya ha sido men-

cionado por Thiele, Scherff (7) y Rosenberg (48).

Con el objeto de comprobarlo se hicieron una serie de determinaciones para ver el contenido de vitamina A y caroteno de los glóbulos rojos. Operamos de la siguiente manera: 20 ml de sangre oxalata, se separan por centrifugación plasma y glóbulos.

Determinamos por un lado caroteno y vitamina A sobre el plasma, por otro lado se lavan los glóbulos rojos con solución isotónica (cloruro de sodio al 9 o/oo). Se hacen dos lavados, centrifugando cada vez en un tubo graduado, medimos la cantidad de glóbulos rojos y determinamos sobre ellos caroteno y vitamina A.

Los resultados obtenidos se reúnen en el cuadro nº 2.

CUADRO Nº 2

Sujeto	Edad	Peso kg	Talla m.	Plasma		Glóbulos rojos	
				Caroteno ∕100ml	Vit.A. ∕100 ml	Caroteno ∕100ml	Vit.A. ∕100 ml
F: 28959	71	71.0	1.55	124	41	---	---
M.L.H.	33	53.0	1.66	93	30	---	---
E.M.	33	52.0	1.55	66	39	---	---
J.D.A.	32	82.0	1.78	60	27	---	---
B.de C.	28	49.0	1.65	114	57	---	---
C.F.C.	35	62.0	1.62	87	35	---	---

Dichos resultados indican que los glóbulos rojos se encuentran completamente desprovistos de caroteno y vitamina A, aún cuando las cifras de estas vitaminas en el suero sean mas elevadas que lo normal.

:

RELACION ENTRE EL CONTENIDO DE CAROTENO Y VITAMINA "A"
DE LA SANGRE Y LOS LIPIDOS DE LA MISMA

Diferentes investigadores han demostrado que en ciertas enfermedades (diabetes, hipotiroidismo, nefrosis), en las que se encuentra elevado el contenido de lípidos de la sangre, ocurre un hecho semejante con la vitamina "A" y el caroteno (Citas: (45), (46), (47)).

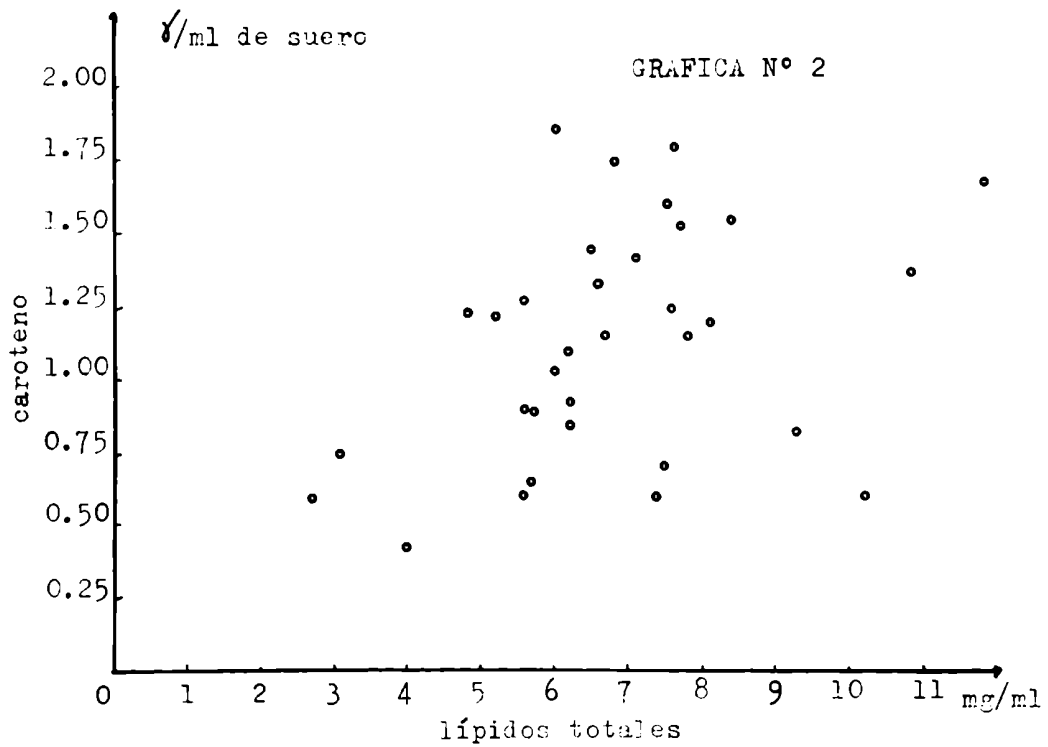
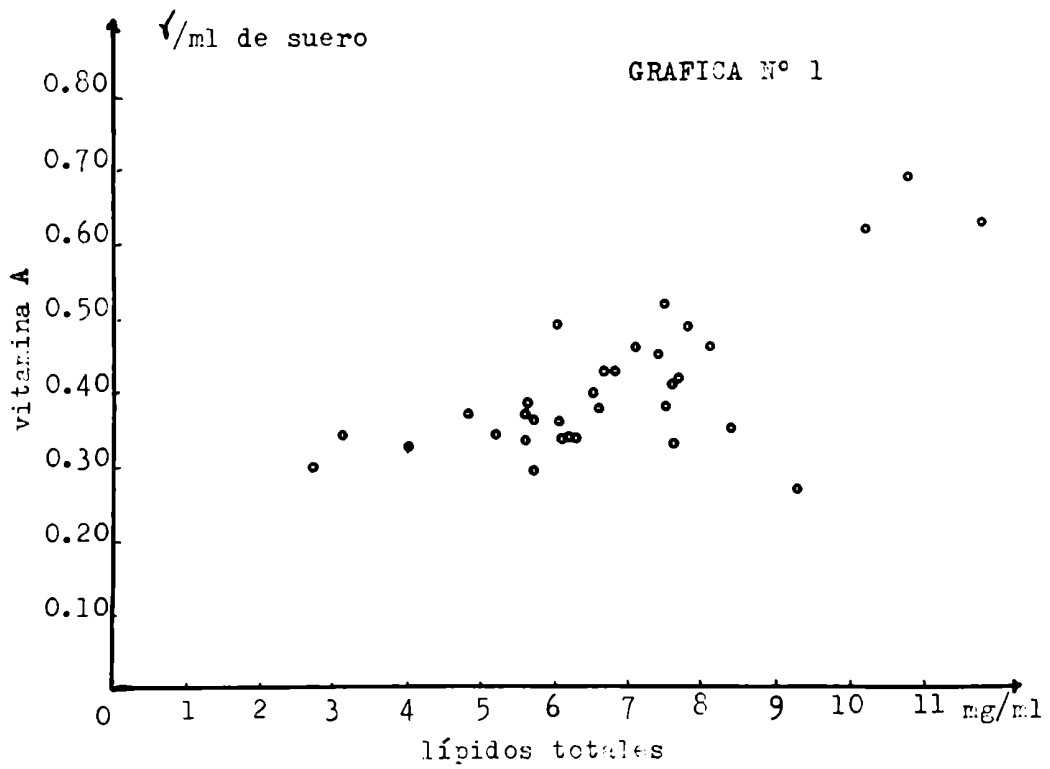
En un trabajo hecho en el año 1939, Josephs (29), demostró que existe aún en estado normal una relación entre la vitamina "A" y el caroteno de la sangre y el contenido de lípidos totales de la misma, explicando este hecho por la solubilidad de la vitamina "A" y el caroteno en las grasas. Por este motivo se consideró de interés comprobar este punto analizando paralelamente en 20 sujetos en estudio los lípidos totales de la sangre y la vitamina "A" y caroteno de la misma.

Para la determinación de los lípidos de la sangre se siguió la técnica de Blood modificada por A. Escudero (49).

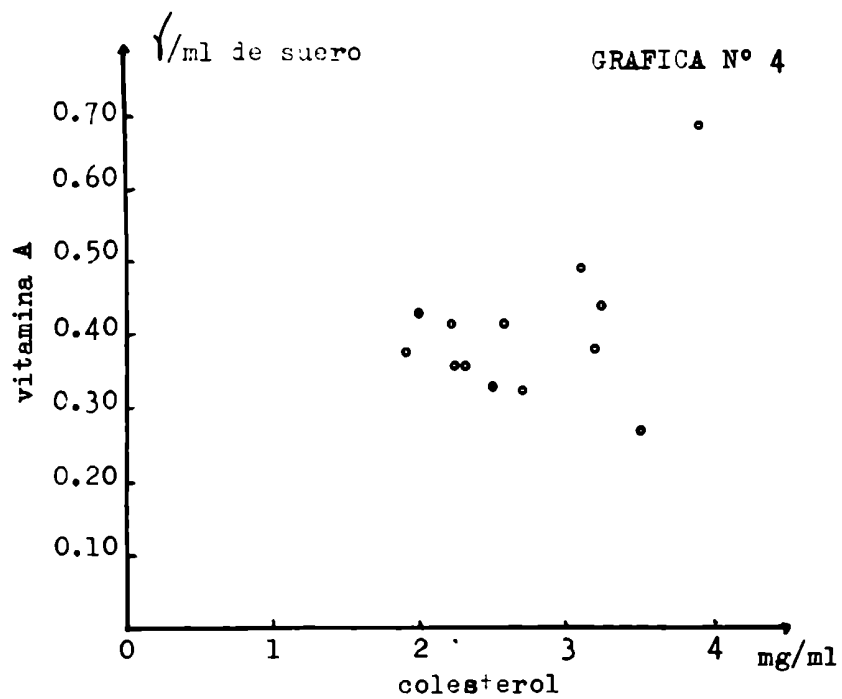
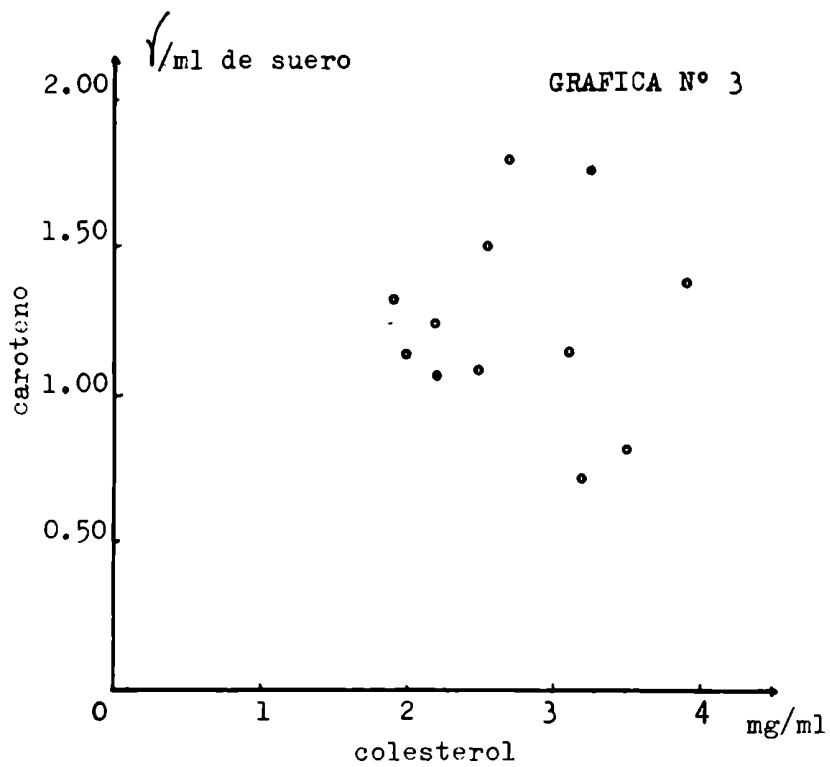
Los resultados que se reúnen en las tablas y cuadros siguientes parecen revelar que existe relación entre la vitamina A y los lípidos totales de la sangre. No ocurre lo mismo con el caroteno, para el que se obtienen valores muy diferentes para una misma lipemia.

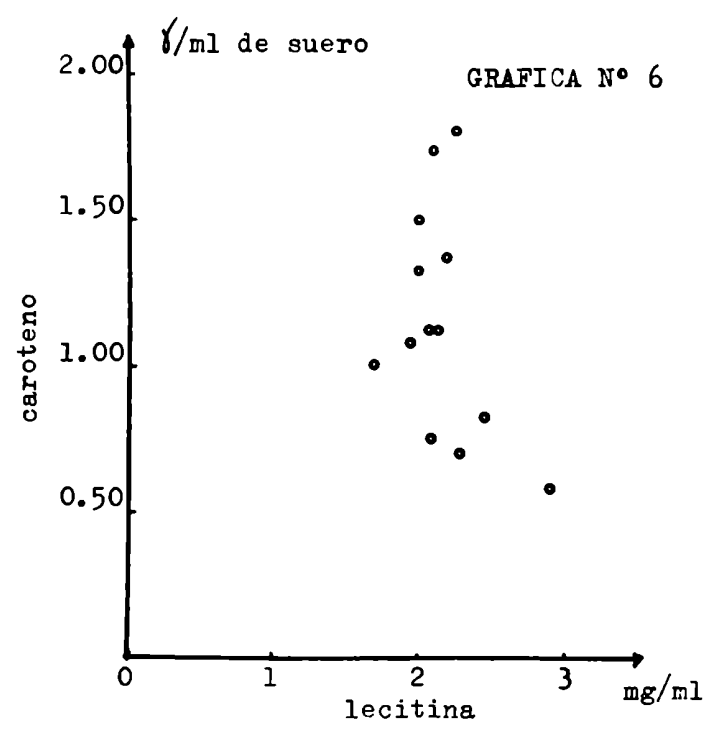
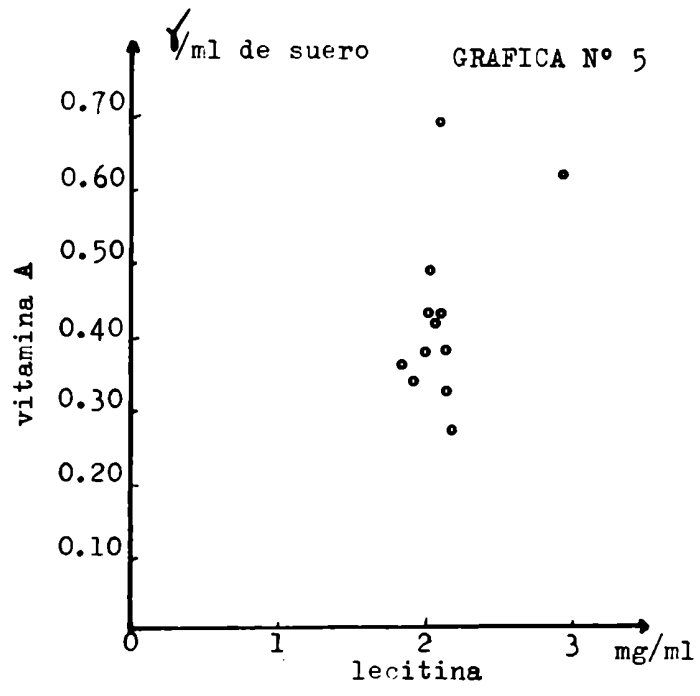
Se hicieron asimismo 12 determinaciones de colesterol, lecitina, vitamina A y caroteno en sangre, encontrando que la vitamina A parecería estar relacionada más con el contenido de colesterol de la sangre que en el contenido de lecitina.

Sujeto	Edad	Peso	Talla	Caroteno γ/100ml	Vitamina A γ/100 ml	Lípidos totales g o/oo
F: 47688	16	49.0	1.70	167	63	11.8
F: 60298	25	48.0	1.45	156	36	8.4
F: 65584	55	57.0	1.64	186	49	6.0
F: 65474	36	59.0	1.78	146	40	6.5
F: 22679	48	66.6	1.63	61	33	5.6
F: 25769	68	82.0	1.68	60	45	7.4
H.S.	38	63.8	1.91	85	34	6.2
F: 65660	18	50.0	1.58	60	30	2.7
M.L.H.	33	53.0	1.66	122	37	4.8
C.F.C.	35	62.0	1.62	73	34	3.1
E.M.	33	52.0	1.55	43	33	4.0
S.A.	20	57.0	1.61	90	37	5.6
F: 23489	15	39.5	1.43	159	52	7.5
F: 49950	55	76.0	1.58	120	46	8.1
F: 66294	19	53.2	1.56	122	34	5.2
F: 66634	32	67.0	1.60	90	36	5.7
F: 55472	35	70.0	1.57	88	34	6.2
F: 66404	12	42.0	1.61	66	29	5.7
F: 23702	42	49.5	1.46	127	38	5.6
F: 29398	20	64.0	1.55	142	46	7.1



Sujeto	Edad	Peso	Talla	Caroteno i/100ml	Vitamina A % /100 ml	Lipidos totales g o/oo	Coleste- rol g o/oo	Lecitina g o/oo
F: 17132	23	94.0	1.90	111	34	6.20	2.50	1.86
F: 21436	58	82.7	1.60	133	38	6.65	1.91	2.01
F: 66978	71	73.0	1.67	137	69	10.80	3.90	2.20
F: 51384	50	58.0	1.63	151	42	7.70	2.58	2.08
F: 63470	61	61.0	1.67	180	33	7.65	2.72	2.27
F: 53321	52	64.0	1.55	116	49	7.85	3.10	2.16
F: 23241	58	83.0	1.52	59	62	10.25	---	2.92
G.A.de A.	23	89.0	1.60	71	38	7.55	3.24	2.29
O.C.	26	84.5	1.76	102	36	6.00	2.36	1.72
F.V.	28	85.0	1.62	82	27	9.30	3.52	2.42
F: 59191	61	73.0	1.65	175	43	6.80	3.24	2.10
M.L.P.	22	88.0	1.70	125	41	7.60	2.22	---
J.C.	31	64.0	1.75	116	43	6.75	2.01	2.17





VALORES ENCONTRADOS EN LA DETERMINACION DE CAROTENO
Y VITAMINA "A" DEL SUERO DE PERSONAS NORMALES:

Con el objeto de determinar el contenido de vitamina A y caroteno de la sangre de personas sanas, se estudió la sangre de 50 sujetos normales (empleados del I.N.N.), que se prestaron voluntariamente para la experiencia. Ninguno de ellos presentaba ninguna enfermedad aparente, ni seguía ningún regimen especial de comidas.

Los valores encontrados se dan en el cuadro a continuación:

Sujetos sanos	Edad	Peso kg	Talla m.	Carotenc √100 ml de suero	Vitamina A √100 ml de suero
1) E.M.	33	52.0	1.55	43	33
2) F.O.de G.	30	58.0	1.65	93	37
3) M.L.H.	33	53.0	1.66	88	36
4) H.G.de A.H.	33	64.5	1.61	63	35
5) J.L.	22	65.3	1.70	178	52
6) J.D.A.	32	82.1	1.78	49	25
7) A.A.	26	67.5	1.66	28	22
8) S.M.de G.	37	63.0	1.54	106	34
9) E.de P.	35	76.0	1.64	149	35
10) A.L.	32	77.8	1.71	113	32
11) E.O.	24	60.2	1.64	109	34
12) M.E.U.O.	26	59.4	1.58	190	39
13) S.B.de C.	28	49.0	1.65	71	18
14) N.C.	40	76.0	1.71	76	25
15) M.I.de C.	45	70.0	1.64	120	35
16) E.G.	34	72.0	1.71	73	34
17) I.R.D'A.	26	69.5	1.63	35	23

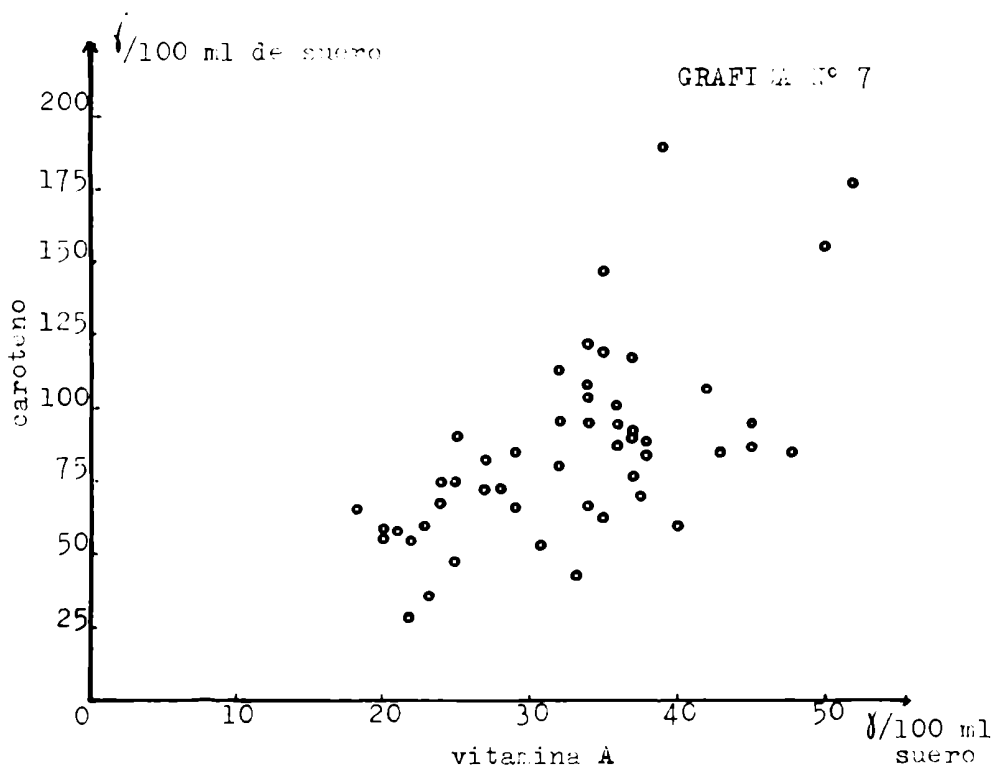
Sujetos sanos	Edad	Peso kg	Talla m.	Caroteno γ/100 ml de suero	Vitamina A γ/100 ml de suero	
18)	E.G.	34	48.0	1.68	55	23
19)	X.C.	34	67.0	1.71	88	45
20)	R.G.	26	51.5	1.61	91	25
21)	J.F.	39	60.0	1.61	57	21
22)	D.de D.	31	61.2	1.58	60	23
23)	C.F.C.	35	62.0	1.62	73	27
24)	S.B.	31	65.0	1.56	66	29
25)	C.D.	32	84.0	1.80	52	31
26)	G.W.	44	78.0	1.76	86	43
27)	J.A.P.	44	91.0	1.75	68	24
28)	V.A.P.	36	82.0	1.77	76	24
29)	I.C.	39	68.0	1.60	97	34
30)	M.E.	31	56.0	1.58	84	29
31)	J.P.E.	25	79.0	1.70	80	32
32)	E.C.	43	62.0	1.63	55	20
33)	H.del O.	48	60.5	1.51	57	20
34)	A.B.	30	52.0	1.58	95	32
35)	A.P.G.	29	54.0	1.59	107	42
36)	V.G.	37	72.0	1.66	97	36
37)	S.de D.	33	66.0	1.58	73	28
38)	L.A.R.	35	77.0	1.76	88	38
39)	C.K.	33	53.0	1.50	156	50
40)	A.R.	27	56.0	1.52	117	37
41)	A.M.A.	26	67.0	1.57	86	48
42)	L.de L.	21	74.0	1.56	66	40
43)	B.D.D.	32	62.0	1.62	78	37
44)	G.Q.	19	53.2	1.56	122	34
45)	C.E.D.	34	50.0	1.59	84	38
46)	S.A.	20	57.0	1.61	90	37
47)	S.A.de A.	23	89.0	1.60	71	38
48)	O.C.	26	84.0	1.76	102	36
49)	F.A.V.	28	85.0	1.62	82	27
50)	M.N.B.	19	76.0	1.64	94	45

Por el estudio de los datos que se reunen en el cuadro anterior, pueden verse los siguientes hechos:

En personas normales y aparentemente sanas los valores de caroteno y vitamina A encontrados varían entre 28 y 190 μ /100 ml de suero y 18 y 52 μ /100 ml de suero respectivamente.

Las cifras mínimas obtenidas están por debajo de las que otros autores (23) consideran como normales. A pesar de este hecho, los sujetos en estudio no presentaban ninguna alteración exterior de la piel ni de las mucosas, que pudieran interpretarse como un síntoma de hipovitaminosis A.

Aún cuando no es muy estrecha existe una cierta relación entre el contenido de caroteno y vitamina A de la sangre; que se hace notable en la gráfica n° 7, hecho lógico puesto que en su mayor parte el caroteno y vitamina A de la sangre proviene de la cantidad de los mismos en la comida.



COMPARACION DE LOS VALORES MEDIOS HALLADOS Y LOS DE DIFERENTES AUTORES

AUTORES	Caroteno			Vitamina A		
	Máximo	Mínimo	Termino medio total	Máximo	Mínimo	Termino medio total
MESSENER, ARDAO y LUSSICH (14)	220	40	88	75	30	51
POPPER, H. y STEIGMANN A. (mujeres) (34)	---	--	85	--	--	47
POPPER, H. y STEIGMANN A. (hombres)	---	--	74	--	--	58
MURHILL, HORTON, LIEBERMAN y NEUBURG (mujeres) (35)	368	100	227	43	20	29.1
MURRILL, HORTON, LIEBERMAN y NEUBERG (hombres)	368	100	199	43	20	33.2
RUBENI, R. (36)	137	41	--	61 (275 U.I.)	28 (127 U.I.)	--
SCALONGNE (37)	--	--	--	18 (80 U.I.)	9 (40 U.I.)	15.5 (70 U.I.)
PIRES de MESQUITA, ECA. (hombres) (38)	--	--	--	--	--	26.6 (120 U.I.)
(mujeres)	--	--	--	--	--	21.1 (95 U.I.)
STEININGER, ROBERTS y BENNER (39)	210	82	115	--	--	--
THIELE, SCHERRF (40)	100	10	--	35.5 (150 U.I.)	22.2 (100 U.I.)	--
BENEDETTO, ANTONIA M.	190	28	84	52	18	33

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el estudio experimental que ha sido objeto de esta tesis, parecerían indicar los siguientes hechos:

- 1º La totalidad de la vitamina A y caroteno en la sangre circulante se encuentra en el suero: los globulos rojos no contienen vitamina A ni caroteno. Por este motivo los valores encontrados en sangre entera son aproximadamente la mitad de los obtenidos en suero.
- 2º Existe una relación entre el contenido de lípidos totales de la sangre y su riqueza en vitamina A y caroteno. Un hecho análogo existe con la colessterina, por el contrario la lecitina es independiente de la vitamina A y caroteno.
- 3º Por el estudio del contenido de vitamina A y caroteno de la sangre de 50 personas normales se han obtenido cifras de caroteno que varían entre: 28 y 190 γ /100 ml de suero, y de vitamina A que varían entre: 18 y 52 γ /100 ml de suero.
- 4º Los valores de caroteno y vitamina A encontrados en personas normales y aparentemente sanas están dentro de los valores dados como normales por los diferentes investigadores que han trabajado en otros países.

BIBLIOGRAFIA

- 1) POPPER, HANS, GREENBERG, R. - Visualization of vitamin A in rats organs by fluorescence microscopy. Arch. Pathol. 32:11-1941.
- 2) POPPER, HANS, BRENNER, SADIE. - Fate of excess vitamin A. stores during depletion value of histologic demonstration of vitamin A. J.Nutrition. 23:431-1942.
- 3) RUFFIN, JULIAN M., CAYER, DAVID and PERLZWEIG, W.A. - The relation between the clinical picture of a mild or early vitamin deficiency and laboratory determination of vitamin levels. Gastroenterology, 3: 340-56-1944.
- 4) WESLY, L.A. - Een onderzoek in de praktijk naar de betekenis van den vitamin A spiegel van het bloed serum. Inaug.Dissert.Utrecht.1940.
- 5) NYLUND, G.E. und WITH, T.K. - On the demonstration of vitamin A deficiency in man. Acta Med.Scand. 56-202-1941.
- 6) STEININGER, G., ROBERTS, L.J. and BENNER, S. - Vitamin A in the blood of normals adults. Journ.Americ. Med.Assoc. 113-2381-1939.
- 7) THIELE, W. and SCHERFF, J. - Uber die pathogenestische and diagnostische Bedentug des Carotin and Vitamin A. Spiegel in Serum Klin.Wschr. 1939-II-1208.
- 8) PIES, R. und WENDT, H. - Untersuchungen über Hemeralopie Ein Beitrag zu der Frage des Vorkommes von Vitamin A Mangelzuständen. Klin.Wschr. 1939-I-429.
- 9) WITH, F.K. - Uber die Resorption, Ablagerung und Stoffwechsel von Vitamin A und Carotinoiden bei den Warmblütigen Tierarten. Hosp.Tid.1938-1196.
- 10) DRUMMOND, J.C. and COWARD, KATHARINE H. - Researches on the Fat-Soluble Accesory Factor (vitamina A): VI Effect of Heat and Oxygen on the Nutritive Value of Butter. Biochem.J. 14:736 (n° 6) 1920
- 11) The Second Supplement to the Farmacopoeia of the United States of America. pag.132-1939.
- 12) SCALONGNE - The normal vitamin A blood level. Acta.Med.Scand. 111-71-1942.

- 13) DRIGALSKI, W. - Uber Carotin-Vitamin A im menschlichen Körper
Nachr.f. Vitaminforsch. 3-37-1934.
- 14) DRIGALSKI, W. - Uber den Stoffwechsel der Vitamin. Erg. inn
Med. und Kinderh. 55-29-1938.
- 15) CLAUSEN, S.W., and MAC COORD, A.B. - J. Pediatrics 13:637-1938.
- 16) FERGUSON, W.S. - Analyst. 60: 680-1935.
- 17) CARR, F.H. and PRICE, E.A. - Colour Reactions Attributed to
Vitamin A. Biochem. J. 20:497-(nº3), 1926.
- 18) KIMBLE, M.S., MADISON, Ph.D. WIS. - The Photocolorimetric De-
termination of Vitamin A and Carotene in Human
plasma. The Journ. of Lab. and Clin. Med. 24:1055
1939.
- 19) DZIALOSZYNSKY, L.M. MYSLKOWOSKI, E.M. and STEWART. - Biochem.
Journ. 39:63-1945.
- 20) CHEVALIER, A., CHORON Y., and MATHERON, R. - Comp. rendn. Soc.
Biol. 127:541-1938.
- 21) MOORE. - Biochem. J. 24:696-1930.
- 22) VAN BEKELEN, EMMERIE. - Acta Brevia Neerland. 4-1932.
- 23) MESSNER, E., ARDAO, I., LUSSICH, J.J. - Actas y trabajos del
II Congreso Panamericano de Endocrinología. Mon-
tevideo, R.O.U. Vol. I: 87, marzo 1941.
- 24) GARRER, P. and SCHOPP. - Helv. Chim. Acta. 15:745-1932. R. Kuhn
and Brockmann Z. Physiol. Chem. 206:41-1932.
- 25) GUILBERT, H.R. - Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 6:452-1934. MUNSEY,
V.E. J. Associat. Official Agr. Chem. - 22:664-
1939.
- 26) ROSENHEIN, OTTO and DRUMMOND, J.C. - On the Relation of the
Lipochrome Pigments to the Fats-Soluble. Accessory
Food. Factor. Lancet. 1:862 (abril 17). 1920.
- 27) SNELL, F.D., and SNELL, C.T. - Colorimetric methods of analy-
sis. Vol. I: 18-1939.
- 28) MAC FARLAN, R.L., REDDIE, J.W. and MERRIL, E.C. - Ind. Eng.
Chem. Anal. Ed. 9:324-1937.
- 29) JOSEPHS, H.W. - Studies in Vitamin A. Bull. Johns Hopkins
Hosp. 65:112-1939.

P. O. N. A.

- 30) DRUMMOND, J. C. and MORTON, R. A. - Observations on the Assay of vitamin A. Biochem. J. 23:785 (n° 4) 1929. COWARD, KATHARINE H., DYER, F. J. and MORTON, R. A. - The Determination of vitamin A in Cod Liver Oils, (a) Biologically, (b) Chemically, (c) Physically, with a Statistical Examination of the Results: II Further Evidence that the Intensity of Absorption at 328 millimicrons Gives the Best Agreement with the Biological Measure of Vitamin A in cod liver oils. *ibid.* 26:1592- (n° 5) 1932. MORTON, HEILBRON and THOMPSON, COWARD, DYER, MORTON and GADDUM.
- 31) DANN, W. J., and EVELYN, K. A. - The determination of Vitamin A and caroteno with the Photoelectric Colorimeter. Biochem. J. 32: 1008-1938.
- 32) KOEHN, G. J., and SHERMAN, W. C. - The determination of Vitamin A and Carotene with the Photoelectric Colorimeter. J. Biol. Chem. 132: 527-1940.
- 33) TAKAHASHI K., NAKAMIYA Z. and KITASATO, T. - On the Physical and Chemical Properties of Biosterin (a name given to fat soluble A) and on Yts Physiological significance. Inst. Phys. Chem. Res. (Tokyo). Sc. Papers 3:81-(n° 32), 1925.
- 34) MORTON, R. A., and HEILBRUN, I. M. - The absorption Spectrum of Vitamin A. Biochem. J. 22:987 (n° 4). 1928. MAC WALTER, R. J. Some Factors Wich Affect the Assay of Vitamin A by the Spectrographic Method. Biochem. 28:472 (n° 2) 1934. COWARD BYER, MORTON and GRADDUN, DRUMMOND and MORTON.
- 35) IRISH, F. W. - Report on Vitamin A - Determination with the Hilger Vitameter J. A. Off. Agric. Chem. 19:244 (Mayo) 1936.
- 36) EEKELEN, M. und. EMMERIE, A. - The determination of carotene and Vitamin A in blood serum by the alcali-digestion Method. Acta. brev. Neerl. 4-171-1935.
- 37) JUHASZ. SCHAFFER. A. - Schwangerschaftshemmalopie un Vitamin A. Klin. Wschr. 1938-I-407.
- 38) LINDQUIST, T. - Untersuchungen über das vitamin A bei Pneumonie. Klin. Wschr. 1937-II-1345.
- 39) WENDT, H. - Beiträge zur Kenntnie des Carotin und Vitamin A. Stoffwechsels. Klin. Wschr. 1935-I-9.
- 40) Acta Brevia Neerland - 2: 155-1932.

FOFBA

- 41) MARENZI, A. - Fotometría y su aplicación al análisis biológico. 1941.
- 42) ZEISS, CARL - Folleto de instrucciones.
- 43) LINDQUIST. - Acta Med. Scand. Supp. 97-1938.
- 44) BROWER, MEYKNECHT y DYJKSTRA. - Le lait. 675-1939.
- 45) LAMBRECHTS, A., SELEUX, CH., and THOMAS, A. - Carotene and Vitamin A content of Blood in diabetes mellitus. Acta. Med. Scand. 116-11-1943.
- 46) GALEONE, A. - The factor A (carotene and vitamin A) in various endocrine diseases. Arch. Sci. Med. 75-560-1943.
- 47) POPPER, H., STEIGMANN, F., DYNIEWCZ, H.A. - Plasma Vitamin A in renal diseases. Amer. Journ. Clin. Path. 15-272-1945.
- 48) ROSEMBERG, H.R. - Chemistry and Physiology of the Vitamins. Interscience Publishers Inc. N.Y. pag. 94-1942.
- 49) ESCUDERO, P. - Tratado de la Diabetes. 366-1933.
- 50) POPPER, HANS, STEIGMANN, F. - The Clinical significance of plasma vitamin A level. Journ. Am. Med. Assoc. 123-1108-1943.
- 51) MURRILL, W.A., HORTON, P.B. and NEWBURG, L.H. - Vitamin A and Carotene metabolism in diabetes and normals. Clin. Investig. 23:395-1941.
- 52) RUBESINI, R. - Contenido de vitamina A y caroteno en el suero humano en diferentes condiciones patológicas. II. El contenido de vitamina A y caroteno del suero en diferentes formas de anemia. (Univ. Roma) Policlinico (Rome). Med. Pt. 47: 213-17-(1940).
- 53) PIRES de MESQUITA, ECA. - Vitamin A in blood plasma. (Inst. Adolfo Lutz. Sao Paulo). O. Hospital - 28-281-96. (1945).

Antonio Gaucetti