

CONTENIDO VITAMINICO EN LOS ACEITES DE HIGADO DE TIBURON DE LAS ANTILLAS *

II. VITAMINA D EXISTENTE EN EL ACEITE DE HIGADO DEL TIBURON AZUL PEQUEÑO

Por CONRADO F. ASENJO, D. H. COOK y JOSEPH AXTMAYER,
Departamento de Química de la Escuela de Medicina Tropical de San Juan, P. R.

La bibliografía referente a investigaciones practicadas sobre el contenido de vitamina D en el hígado del tiburón no es muy numerosa, pero podemos señalar algunas comunicaciones aparecidas de tiempo en tiempo.

Bills¹ en un estudio muy completo de aceites de hígado de diferentes peces asegura que los aceites obtenidos del hígado del tiburón y del *dogfish* (pez mastín?) de Newfoundland tienen una potencia vitamínica de 75 y 3 por ciento, respectivamente, en comparación con el aceite de hígado de bacalao de la misma región, que es el que se emplea corrientemente en usos medicinales.

Brocklsby² ha encontrado que los diferentes aceites de *dogfish*, según la región donde se pesque, poseen una potencia vitamínica de menos de 10 a 30 por ciento, aproximadamente, que el aceite de hígado de bacalao medicinal.

Asmudson, Allardyce y Biely³ han podido investigar el contenido de vitamina D del aceite de hígado del *dogfish* en relación con la alimentación de las aves de corral. Como animales de experimentación utilizaron pollitos, y tomaron como índice de actividad antirraquítica la cantidad de cenizas contenidas en el cadáver de los pollitos incinerados al terminar el período experimental. Según estos autores, el aceite de hígado del *dogfish* puede proporcionar a los pollitos bastante cantidad de vitamina D, pero nunca tanta como el aceite medicinal de hígado de bacalao.

Seel⁴ estudió también diversos aceites de hígado de tiburón, pero no sabemos los resultados obtenidos por este autor.

Schmidt-Nielson y Stene⁵ han investigado el contenido vitamínico en los peces cartilaginosos y han llegado a la con-

* Recibido en Redacción el 3 de febrero de 1937.

El primer artículo de esta serie ("Contenido vitamínico en el aceite de hígado del tiburón—sp. *Carcharinus*—de las Antillas") apareció publicado en este mismo *Journal of Public Health and Tropical Medicine*, 11: 158-66 (1935).

clusión de que la riqueza vitamínica D en los tiburones no es muy abundante.

Poulsion,⁶ por su parte, afirma que, en general, el aceite obtenido de los peces cartilaginosos es más pobre en vitamina D que el aceite de hígado de bacalao, lo que, según este autor, se explica, porque en estos peces la osificación no es un proceso tan importante y, por consiguiente, no necesitan vitamina D.

André y Lecoq⁷, después de analizar varios aceites obtenidos de peces cartilaginosos, afirman que su potencia vitamínica D oscila entre 25 y 90 por ciento de la que contiene un buen aceite comercial de hígado.

Kawai y Yoshida⁸, al analizar el aceite de hígado de *Squalus wakiyae* Tunaka (Aburatsunosame), son de opinión que dicho producto es muy pobre en contenido vitamínico D.

Bills⁹ analizó un aceite de hígado de tiburón de origen y especie desconocidos, y pudo comprobar que su valor vitamínico es de 50 Unidades Internacionales; y en los aceites de hígado de *dogfish* pescado en la costa del Atlántico y del Pacífico, las unidades vitamínicas fueron de 30 y 3, respectivamente, según la procedencia.

De todos estos datos que hemos enumerado referentes al contenido de vitamina D en los aceites de hígado de diferentes especies de tiburones, parece deducirse que los aceites obtenidos de los peces cartilaginosos no son, en general, muy ricos en contenido vitamínico D.

Según nuestro modo de ver, todas estas comunicaciones se refieren a investigaciones practicadas de aceites de hígado de tiburón pescado en zonas frías y templadas; por consiguiente, sería interesante repetir estos estudios en especies de los mares tropicales y comprobar, si es posible, la influencia del medio ambiente sobre el contenido de vitamina D en los aceites de estas mismas especies.

Exponemos aquí el resultado de nuestras investigaciones del aceite de un ejemplar de tiburón azul pequeño (*Carcharias milberti* Valenciennes?)¹⁰, pescado en la costa norte de Puerto Rico, en el mes de abril. Todo el pez pesaba trece quilos; el hígado, algo más de un quilo.

Obtuvo el aceite por maceración del hígado y filtración a través de un lienzo. Después de centrifugado se le dejó reposar en la refrigeradora para separar la estearina, tras

lo cual se le decantó y se le volvió a filtrar dentro de la refrigeradora a una temperatura de 8° a 10° C.

Las constantes físicas fueron:

Peso específico a 25° C.....	0.9221
Índice de refracción (Abbé) a 28.5° C.....	1.4739

EXPERIMENTACIÓN

Para determinar el contenido de vitamina D seguimos el método analítico de Steenbock-Black ¹¹. Utilizamos ratas albinas (procedentes de los criaderos del Instituto Winstar), de unos 35 gramos de peso, criadas en el laboratorio; a los veintiocho días de nacidas se las sometió a una ración alimenticia basal, desprovista de vitamina D, pero completa en lo que se refiere a los demás componentes esenciales. Esta ración (Steenbock, Núm. 2965) se compone de 76 por ciento de maíz amarillo, 20 por ciento de gluten de trigo, 3 por ciento de CaCO₃ y 1 por ciento de NaCl. Todas las ratas estuvieron sometidas a esta alimentación acompañada de agua destilada *ad libitum*, durante todos los períodos de agotamiento y de experimentación.

Las tablas semanales de aumento de peso y de consumo alimenticio resultaron uniformes en todo el lote de animales durante el tiempo que duró la experimentación.

A cada una de las ratas se la puso en una jaula metálica individual, con fondo de tela metálica levantada sobre el piso para evitar la coprofagia, y al abrigo de la luz solar. Al final de las cuatro semanas del período de agotamiento vitamínico D se escogieron dos ratas al azar entre el lote de veintiséis, y se les examinaron las tibias (prueba de calcificación), pudiendo comprobarse signos iniciales moderados de raquitismo. Dividimos entonces, en cuatro lotes de seis, las veinticuatro ratas restantes. Uno de estos lotes se dejó como testigo (control negativo) y se le continuó suministrando la dieta basal solamente. De los otros tres lotes, a dos se les añadió a la ración alimenticia 10 y 20 miligramos diarios, respectivamente, de aceite de hígado del tiburón, y al tercer lote se le suministró junto con la ración una unidad de vitamina D todos los días, en forma de viosterol.

El viosterol que utilizamos contenía 10,000 unidades (U. S. P.—Farmacopea americana) de vitamina D por gramo. Se suministró a estas ratas una fracción de un mililitro equivalente a una unidad (U. S. P.) de vitamina D, lo que equivale

a una unidad vitamínica internacional¹². Las pequeñas cantidades de viosterol y aceite de hígado de tiburón utilizadas en la alimentación iban diluídas en éter de petróleo. El volumen total de la solución para alimentar a las ratas midiósse cuidadosamente con una pipetilla, vertiendo su contenido en un platino sobre la dieta basal alimenticia desprovista de vitamina D. El éter de petróleo utilizado se le dejó evaporar a la temperatura ordinaria del laboratorio, ya mezclado con la dieta. Las soluciones fueron preparadas a días alternos, para evitar así que se pudiese destruir la vitamina a causa de la conservación en el solvente.

La alimentación experimental de los animales duró tres semanas, al cabo de las cuales sacrificáronse todas las ratas examinando entonces el hueso de la tibia de cada una. Esta operación se practicó lavando la tibia con acetona durante 12 horas, y tras de lo cual seccionábamos el hueso con un escalpelo bien afilado, teñíamos el corte con solución de nitrato de plata al 1 por ciento durante un minuto, lavando en agua destilada y montando en el microscopio de disección. Para apreciar el alcance de los trastornos óseos en las tibias del animal sometido a experimentación, comparábamos lo observado en los que tomaban aceite de hígado de tiburón con los controles negativos y con los que recibían una unidad de vitamina D, diariamente, en la alimentación. En estos últimos la integridad ósea era evidente; en cambio, en los controles (testigos negativos) podían observarse los trastornos de estructura ósea que aparece el raquitismo agudo. Las ratas que ingerían 20 miligramos de aceite de hígado de tiburón tenían un aspecto bastante semejante al de las que se les daba una unidad de vitamina D diariamente; pero las que solamente ingerían 10 miligramos diarios de aceite de hígado de tiburón tenían las tibias todavía imperfectamente osificadas.

El contenido de calcio y fósforo por cada 100 gramos de peso bruto pudimos determinarlo en 5 ratas de cada lote. Los resultados de estos análisis aparecen en la tabla y, según puede verse, concuerdan con los datos observados en las pruebas de calcificación de la tibia; así, por ejemplo, la mayor cantidad de sales de calcio y fósforo por cada 100 gramos de peso bruto corresponde a los animales que ingerían una unidad diaria de vitamina D, y los valores más inferiores son precisamente los de los animales utilizados como controles negativos.

Los cortes histológicos de las tibias, practicados en una rata de cada lote, confirmaron lo observado en el examen directo de las tibias.

Dieta de suplemento	Peso medio del animal en la fecha en que se comienza la dieta de suplemento; (gms. por rata)	Peso medio al terminar el período experimental; (gms. por rata)	Cantidad de alimento ingerido durante las siete semanas (peso medio) (gms. por rata)	Residuo de cenizas por cada 100 gms. de peso bruto (promedio)	Contenido de calcio por 100 gms. de peso bruto (promedio)	Contenido de fósforo por 100 gms. de peso bruto (promedio)	Prueba de calcificación tibial	Examen histológico	Unidades vitamínicas (U.S.P.) por gramos de aceite de hígado de tiburón
Controles negativos.....	60.8	71.5	267	2.38	0.650	0.498	—	—
10 miligramos diarios de aceite de hígado de tiburón.....	60.8	69.0	264	2.73	0.767	0.527	+ a ++	+ a ++
20 miligramos diarios de aceite de hígado de tiburón.....	60.8	69.9	277	2.78	0.795	0.529	+++	+++	50
Una unidad de Vitamina D diariamente.....	60.8	69.6	274	2.82	0.813	0.587	+++	+++

Raquitismo grave se expresa con—
Raquitismo avanzado se expresa con +

Raquitismo moderado ++
Normal +++

RESUMEN

Expónense en este artículo los siguientes datos:

1. Breve revista bibliográfica sobre las investigaciones llevadas a cabo por varios autores para determinar el contenido de vitamina D en el aceite de hígado de diferentes especies de tiburones.

2. Cantidad de vitamina D existente en el aceite de hígado de un ejemplar de tiburón azul pequeño, pescado en aguas de Puerto Rico. El contenido fué de 50 unidades (U.S.P.) por gramo (unidades internacionales).

Deseamos expresar nuestro reconocimiento al Dr. S. F. Hildebrand, del Negociado de Pesquerías de Washington, D. C., por la identificación del ejemplar del tiburón que utilizamos en nuestras investigaciones, y al Dr. E. Koppisch, Jefe del Departamento de Anatomía Patológica de esta institución, por la colaboración que nos prestó en el examen histológico de los cortes óseos.

R. L. trad.

BIBLIOGRAFIA

1. BILLS, C. E. J. Biol. Chem. 72: 751-758. 1927.
2. BROCKLESBY, H. N. Can. Chem. Met. 13: 74-77. 1929.
3. ASMUDSON, V. S., ALLARDYCE, W. J. y BIELY, J. Sci. Agr. 9: 594-598. 1929.
4. SEEL, H. Zeitschrt. Vitamin-Kunde. 174-179. 1930.
5. SCHIMIDT-NIELSEN, S. y STENE, J. Kgl. Norske Videnskab Forhand B. 31-13: 51-54. 1931.
6. POULSSON, E. Norsk Mag. Saegevidensk. 92: 125-129. 1931.
7. ANDRÉ, E. y LECOQ, R. Compt. Rend. 194: 912-914. 1932.
8. KAWAI, K. y YOSHIDA, M. J. Pharm. Soc. Japan. 53: 152-170. 1933.
9. BILLS, C. E. Physiological Reviews. 15: 1. 1935.
10. Private communication, Bureau of Fisheries.
11. STEENBOCK, H. y BLACK, A. J. Biol. Chem. 85: 585-606. 1925.
12. U. S. Pharmacopoeia, X Edition. Rev. 1924.