6.3

La Crónica Médica

APARTADO POSTAL 2563 LIMA - PERU

Universidad Nac. May. de San Marcos
INGRESADO EN
- 1 SET. 1960
BIBLIOTECA CENTRAL
LIMA - PERU

COMITE DE REDACCION

CARLOS A. BAMBAREN
Director

REDACTORES

EDMUNDO ESCOMEL
LUIS D. ESPEJO — RAFAEL M. ALZAMORA — JOSE MARROQUIN
ERNESTO EGO-AGUIRRE — JORGE AVENDAÑO HUBNER
LUIS QUIROGA QUIÑONES — HUMBERTO PORTILLO
JOSE B. JIMENEZ CAMACHO
GUILLERMO KUON CABELLO

Año 73.- Núm. 1120 Octubre 1956

SUMARIO

NUMERO MONOGRAFICO

Acción de la nicotinamida sobre la hiperglucemia aloxánica, por el Sr. Daniel La Rosa Bazalar.

Introducción, pág. ... 181

Acción metabólica y farmacológica de la nicotinamida, pág. ... 182

Influencia de la nicotinamida sobre la hiperglucemia de la diabetes aloxánica, pág. ... 189

Investigaciones efectuadas e interpretación de los resultados, pág. ... 193

Conclusiones, pág. ... 197

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

Alergias

Ahora también en forma de jarabe

Para niños y adultos

Allercur

Antihistamínico · Antialérgico

Allercur-jarabe . . . . . Frasco con 100 c. c.
Allercur-grageas . . 20 grageas de 20 mg. cada una.
Allercur-ampollas 3 ampollas de 1 c.c. cada una = 10 mg.
Allercur-ungüento . . . . Tubo con aprox. 20 g. de ungüento al 2 %

Schering

SCHERING A.G. BERLIN · ALEMANIA

Representantes: Schering Farmacéutica Peruana S. A.
Av. Wilson 1218 · Casilla 2236 · Teléfono: 11851

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

Cátedra de Farmacología de la Facultad de Farmacia de Lima
Catedrático Dr. Carlos A. Bambarén

Acción de la nicotinamida sobre la hiperglucemia aloxánica

Por el Sr. **DANIEL LA ROSA BAZALAR**

Las vitaminas son elementos que en ínfimas cantidades sirven de factor catalítico primordial en el organismo animal. Las enzimas, a su vez, necesitan co-enzimas o "grupos prostéticos" que se comportan a menudo como vitaminas.

Esta relación entre vitaminas y enzimas, explica el proceso íntimo de las reacciones metabólicas, así como la etiopatogenia de enfermedades de esta índole, y el mecanismo farmacodinámico y farmacoterápico de algunas drogas.

Entre los elementos que integran el complejo vitamínico B, el ácido nicotínico o factor antipelagroso, ofrece particular interés farmacológico, pero es la amida del ácido nicotínico, la que ha ensanchado el campo de sus aplicaciones, porque como lo sostiene Eleazar Guzmán Barrón, la amida del ácido nicotínico, del mismo modo en los citocromos y flavoproteínas, interviene en las oxidaciones y reducciones relacionadas con el metabolismo de carbohidratos y proteínas.

El tema de la diabetes aloxánica ha sido objeto de acucioso estudio en la cátedra de Farmacología y Posología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Lima, principalmente en sus aspectos farmacodinámicos, siendo Heine Arévalo (1) el que investigó por primera vez en el Perú la acción diabetógena del aloxano en el conejo; luego, Juan Vargas Zavala (43) estudió el antagonismo farmacológico entre dimercaptopropanol y aloxano; enseguida Frida Manrique Zegarra (46) analizó las variaciones de la colesterolemia del conejo diabetizado por aloxano. A estos trabajos del año 1949, siguieron en el año siguiente los de Angel Torres Valdivia (40) que estudió la influencia del aloxano sobre la sodemia y del sodio sobre la hiperglucemia experimental aloxánica del conejo; de Manuel Madrid Gutiérrez (28) que escudriñó las variaciones de la ascorbinemia del conejo diabetizado por aloxano y según dis-

Este trabajo terminó de redactarse en diciembre de 1952.

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

tintos regímenes alimenticios; de Francisco Guzmán Román (15) que discutió el antagonismo del azul de metileno en la acción diabetógena del aloxano; de Yolanda Chichizola (5) quien estudió la influencia de la Riboflavina sobre la hiperglucemia aloxánica del conejo y de Irene Palacios (32) que puntualizó las variaciones del glutation sanguíneo por acción del aloxano. En 1951, Sara Chipoco H. (6) señaló las variaciones de calcemia y potasemia en el conejo por influjo del aloxano.

Este trabajo, que estudia la acción de la nicotinamida sobre la hiperglucemia aloxánica del conejo, consta de las siguientes partes: En la primera, describo la acción metabólica y farmacológica de la nicotinamida; en la segunda parte estudio el influjo de la nicotinamida sobre la hiperglucemia de la diabetes aloxánica; en la tercera refiero los experimentos que he efectuado sobre la acción de la nicotinamida en la hiperglucemia aloxánica; enseguida, formulo las conclusiones y, por último, señalo la bibliografía consultada.

He llevado a cabo este trabajo, por consejo y orientación del Catedrático Titular de la Cátedra de Farmacología y Posología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Lima Dr. Carlos A. Bambarén; por ello le presento mi reconocida gratitud.

Los experimentos se efectuaron en el Laboratorio de Farmacología de la Facultad, con la gentil ayuda del Dr. Fernando Montesinos, a quien agradezco sinceramente, así como al personal de dicho Laboratorio.

ACCION METABOLICA Y FARMACOLOGICA DE LA NICOTINAMIDA

El conocimiento del ácido nicotínico, así como su amida, data de algunos años; con él se descubrió elemento curativo de la Pelagra.

El ácido nicotínico se encuentra en la levadura de cerveza, de donde Funck, en 1921, consiguió aislarlo. En ese mismo año, Susuky y Matsunaga aislaron el ácido nicotínico de los extractos vitamínicos obtenidos del polvillo del arroz. En 1935, Warburg y Kuhn, prepararon la amida del ácido nicotínico a partir del co-fermento de la sangre de caballo y del músculo cardíaco, respectivamente. Elvehjen y sus colaboradores Madden, Strong y Wolley, en 1937, aislaron del hígado la nicotinamida, probando que era factor que prevenía la Pelagra, según sostienen Bodanski y Bodanski (2).

La definitiva identificación de la vitamina que nos ocupa, se debe a J. Goldeberger, médico de la Oficina de Salud Pública de los EE.UU., quien en 1924, junto con sus colaboradores, haciendo estudios sobre la Pelagra, estableció su identificación etiológica, y a Elvehjen y sus discípulos, quienes en 1937 precisaron que el ácido nicotínico es la vitamina antipelagrosa.

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

Algunos organismos inferiores, tales como las Chilomonas paramecium, pueden sintetizar nicotinamida y codehidrogenasa de fuentes simples como carbón y nitrógeno, según lo probó Hutchens (19).

Muchas especies de bacterias según Gale (16) e insectos según Rubenstein y Shekun (34) y Trager (39), asi como muchos animales superiores no pueden constituír el núcleo de la piridina. Para ellos tiene el carácter de vitamina y debe suministrarse de fuentes externas.

Se cree que los ámino-ácidos son las piedras fundamentales para la síntesis del ácido nicotínico por medio de las plantas. Bovarnick (4) realizó una síntesis de laboratorio de la nicotinamida a partir de aminoácidos. Para lograrla, empleó aspargina y ácido glutámico en una solución de agua conteniendo rastros de sulfato de manganeso, dentro de un baño de agua hirviendo en aerobiosis, durante nueve días. Obtuvo muy poco, pero la reacción puede considerarse como uno de los métodos que emplea la naturaleza.

La utilización de los amino-ácidos por las plantas, con el fin de producir un derivado de piridina, ha sido probado por Klein y Lineer. Una inyección de prolina, ornitina y ácido glutámico en el vástago de los tallos de arroz ("oriza sativa") aumentó la producción de trigonelina de la savia de dicha planta. La trigonelina y el ácido nicotinúrico se encontraron en la orina, mucho tiempo antes que se diera importancia a ciertos compuestos de piridina. Su presencia fué atribuída a la ingestión de alimentos de origen vegetal. Los granos de café, por ejemplo, contienen una considerable cantidad de estas sustancias, según lo observaron K. H. Sillotta y K. Neisser. Hoy se sabe que la mayoría de los organismos superiores excretan la mayor parte del exceso de ácido nicotínico en forma de metilo como trigonelina y N-hidroximetilnicotinamida.

Para Marenzi (27) la nicotinamida se encuentra, aunque en pequeñas cantidades, al estado libre, predominando la forma combinada en la constitución molecular de ciertas coenzimas, que intervienen en las oxidaciones intracelulares. La amida nicotínica de los tejidos y glóbulos rojos se encuentra prácticamente como coenzima.

Según Deulofeu y Marenzi (8) solo en el plasma hay ácido y amida nicotínica al estado libre. En condiciones normales de alimentación, el plasma contiene 0.15 miligramos de nicotinamida por 100 cc. y los glóbulos rojos 1.5 miligramos por 100 cc. En estados de carencia, la concentración de nicotinamida en la sangre no disminuye, pero sí el contenido de enzimas en los órganos.

El ácido nicotínico o ácido beta-piridin carboxílico y la nicotinamida, forma amídica de aquél, prueba su importancia, porque, según Santos Ruiz (35), uno de sus derivados piridínicos entra en la constitución de nucleótidos, que son recepto-

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

res de hidrógeno y contribuyen a la oxidación intraorgánica, al pasar a substancias hexahidropiridínicas, que vuelven a ceder su hidrógeno para retornar al punto inicial.

Rosemberg (33) que ha estudiado este proceso bioquímico, dice que la codehidrogenasa absorbe dos átomos del hidrógeno, siendo luego reducida a dihidro, la dihidro-codehidrogenasa es nuevamente oxidada y transformada en codehidrogenasa. Esta reacción se efectúa en el laboratorio mediante la acción del hiposulfito de sodio en un medio alcalino.

La importante función metabólica que le corresponde al ácido nicotínico, lo es también para la nicotinamida, que es la forma de reserva de aquél.

La absorción del ácido nicotínico por el organismo cuando lo recibe por vía digestiva, a la que llega con los alimentos en diversas formas químicas, ya sea como ácido nicotínico o como amida del citado ácido, se realiza fácilmente; pero si penetra en forma de complejo piridin-nucleótido como es la cozimasa en este caso, es necesario un desdoblamiento, que se efectúa por intermedio de las enzimas digestivas. Una vez absorbido, según unos autores como tal, según otros unido a una sustancia liberada por la mucosa gástrica, pasa a la circulación sanguínea y de aquí a la intimidad de los tejidos donde se almacena como nicotinamida.

La nicotinamida se deposita en algunos órganos y en concentración en la cápsula suprarrenal, siguiendo en órden decreciente en los pulmones, riñones, hígado, cerebro, estómago, intestino y miocardio.

La absorción y almacenamiento del ácido nicotínico se hace en parte como codehidrasa I y II, y en parte como compuestos de ácido nicotínico de gran peso molecular; es en la forma de codehidrasas como interviene activamente en el metabolismo.

La nicotinamida integra los sistemas óxido-reductores, que son constituyentes de varios cofermentos, cozimasas (difosfopiridin nucleótido), codehidrasa II (trifosfopiridin-nucleótido), así como de los grupos prostéticos de varias otras deshidrasas, que desempeñan papel esencial en la formación y desintegración de los hidratos de carbono, alcoholes y ácidos grasos en los organismos animales (18).

La cozimasa, coenzima y codehidrasa I de Euler se encuentra en la levadura de cerveza y es un difosfopiridinnucleótido, constituído por la combinación de una molécula de ácido nicotínico, una de adenina, dos de pentosa y dos de ácido fosfórico. La cozimasa II, coenzima, codehidrasa II o cofermento de Warburg, se encuentra en los hematíes como cofermento respiratorio; su constitución incluye una molécula más de ácido fosfórico (trifosfopirin-nucleótido) que las que forman la codehidrasa I.

En la metabolización de los hidratos de carbono y también en las funciones de oxidación, los sistemas de Euler y Warburg

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

tienen mucha importancia, pues gran parte de la cantidad de energía que el organismo necesita, deriva de estas fases metabólicas. La intervención de la nicotinamida en los procesos del metabolismo, crecimiento y vida de la célula, así como en diversas funciones, tales como en el metabolismo glucídico, proteico, porfirínico, azufrado y pigmentario, está fuera de dudas.

La función principal de la codehidrasa I, como sostiene Stepp, es continuar la oxidación de las sustancias glucídicas que se hallan en la etapa inicial de catabolismo, es decir, disgregar por oxidación los fosfatos de hexosa y triosa (fosfoexosa y fosfotriosa), respectivamente.,

La codehidrasa II participa principalmente en la transformación de los carbohidratos en proteínas. Algunas preparaciones muy purificadas de las codehidrogenasas contienen considerables cantidades de ácido nicotínico en lugar de nicotinamida; habría que investigar si esto se debe a una descomposición química de la amida del ácido o a la existencia de tales derivados de la coenzima en la naturaleza.

Hay dehidrogenasas que funcionan con nucleótidos de nicotinamida, como grupos prostéticos. Cada una de las coenzimas se combina con diversas proteínas, teniendo especificidad limitada. Son las proteínas las que hacen a la dehidrogenasa estrictamente específica. Mientras que los estudios realizados con coenzimas puras, así como apo-enzimas, pueden considerarse bien orientados, hay mucha incertidumbre en las investigaciones en las cuales se ha usado proteínas impuras.

En trabajos iniciales sobre la dehidrogenasa de la glucosa, se estableció que cada una de las coenzimas podría funcionar como grupo prostético, Lyen y Franice, sin embargo, han demostrado que las preparaciones purificadas de la proteína son activadas solo por la cohehidrogenasa I. Una fosfatasa presente en las preparaciones de dehidrogenasa puede rápidamente transformar una codehidrogenasa II en una codehidrogenasa I.

Las dehidrogenasas difieren según K. T. Schlenk (37) de la mayor parte de las otras enzimas con un grupo prostético conocido, en su gran poder de disociación. Son análogas a los fosfatos de adenosina en lo referente a trasporte de fosfato. Parnas (29) ha inventado la frase que las describe como: "co-enzimas móviles" en contraste con las "co-enzimas fijas".

Meyerhof ha probado que en ciertas condiciones biológicas los nucleótidos de nicotinamida están en gran cantidad, mientras que en otras enzimas con un grupo prostético (co-enzimas fijas), la proporción con respecto a la proteína es 1:1. Esta característica particular ha sido mencionada en forma muy especial por Dixon y Zeefas (9) y Parnas (29).

Las coenzimas de la nicotinamida pueden reaccionar en presencia de las proteínas específicas con diversos substratos. Las coenzimas reducidas (u oxidadas) que resulten de esta reacción, pueden luego combinarse con otra proteína y reaccionar

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

con cualquier componente. La concentración de los diversos componentes y, quizá mecanismos reguladores especiales, determinan la marcha y curso de la reacción.

Las siguientes formas son importantes para la reoxidación biológica de las dihidro-coenzimas: la flavo-proteína de Straub, (38), las diaforasa, oxida a la dihidro-coenzima X; y la citocromo-reductasa de Haas (20), que es también una flavo-proteína, oxida a la dihidro-coenzima II. Existen otras enzimas de riboflavina capaces de oxidar a las coenzimas de nicotinamida ya reducidas, pero su rol biológico está aún en duda. La oxidación mediante las o-quinonas que fué observada por Kubowits merece especial atención.

La síntesis enzimática de la nicotinamida y las codehidrogenasas constituyen aún una incógnita y son pocos los hechos que se conocen. En contraste con esto, los procesos de la degradación biológica de las coenzimas y el fin del excedente de ácido nicotínico han sido estudiados en forma muy amplia. Se sabe mucho más sobre la transformación de estos compuestos, que acerca de su formación.

En cuanto a su intervención en el metabolismo de las porfirinas, B. Lorenzo Velásquez (42) dice: "Experimentalmente cuando a un perro se le somete a un régimen carente en esta vitamina, acusa entre su sintomatología una porfirinuria marcada", y como es el hígado el órgano donde se efectúa una de las etapas del metabolismo de las porfirinas, se deduce que la deficiencia de nicotinamida trae como consecuencia desequilibrio de la función hepática. Este autor sostiene que la porfirina de origen diabético, disminuye rápidamente con dosis apropiadas de nicotinamida.

La nicotinamida interviene en el metabolismo del azufre y de los pigmentos, pues, Santos Ruiz (35) afirma que una nicotinopenia produce excesiva eliminación de hierro y azufre.

Puede establecerse que tanto la nicotinamida como la cozimasa, son elementos principales de sistemas óxido-reductores, que funcionan con cierto sinergismo, especialmente en el metabolismo glucídico, con el sistema redox aneurina-disulfurudado.

Hoy se acepta la intervención del ácido nicotínico y su amida en el metabolismo de los prótidos y Stepp, Kuhman y Schroeder sostienen que es necesario su presencia para la asimilación de las albúminas.

El ácido nicotínico y la nicotinamida se eliminan, según Ackerman, sin transformarse o unidos a la glicocola, o a un grupo metílico que se agrega al nitrógeno del anillo, formando entonces trigonelina (ácido nicotínico-metilbetaina); estas transformaciones tienen lugar en el hígado.

El producto de excreción nicotínica varía con la especie; el hombre con una alimentación normal excreta por la orina 20 a 50 mg. de derivados de conjugación del ácido nicotínico, la

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

principal forma de eliminación es la N1-metilnicotinamida, derivado metílico de la nicotinamida.

Perlzweig, Rosen y Pearson (30), en 1950, efectuaron minuciosa investigación metabólica con niacinamida, N1-metilnicotinamida y 6 piridona en nueve especies animales: hombre, perro, rata, cerdo, conejo, cobayo, ternera, cabra y carnero, comprobando que en el hombre, entre 75 y 85 por ciento de una dosis administrada por vía oral de niacinamida puede reconocerse en la orina, 30 a 40 por ciento como N1-metil-niacinamida y 35 a 45 por ciento como 6-piridona.

Cuando administraron N1-metilniacinamida por vía oral, sólo 30 a 40 por ciento se recobró de la orina sin modificaciones o como 6-piridona.

Estos resultados indican que el metabolismo de la niacinamida en el hombre requiere metilación previa.

Knox y Grosman (24) han encontrado otro derivado de la niacina en la orina al estudiar la destrucción de la quinina en el organismo. La enzima que oxida la quinina, así como a algunos compuestos heterocíclicos que contienen nitrógeno en el anillo, oxidación que tiene lugar en un carbono del anillo adyacente al nitrógeno, actúa sobre el ácido nicotínico, siendo la N1-metilnicotinamida la oxidada más rápidamente. El producto de esta oxidación es la N1-metil-6-piridon 3-carboxilamida.

El conejo excretó menos del 4 por ciento de la niacinamida administrada por vía oral, como N1-metilniacinamida o 6-piridona, lo que prueba que esta especie no posee capacidad para metilar la niacinamida. Handler (22) dice que los conejos y cobayos no emplean sus reservas de "metilos lábiles" cuando se les administra niacinamida.

Estos resultados establecen que sólo el hombre es capaz de oxidar en cantidad apreciable la N1-metilniacinamida a 6 piridona, mientras que los herbíboros metabolizan la niacinamida sin metilación.

Ellinger (10) dice que los llamados "donadores de metilo" tienen influencia en el mecanismo metilante de eliminación de la nicotinamida.

Tratando de las propiedades fisiológicas y farmacológicas de la nicotinamida, hay que recordar que si a un animal en crecimiento se le coloca en régimen carencial de esta vitamina, éste se detiene.

Ciertos cultivos microbianos acentúan el crecimiento de sus colonias, agregando pequeñas porciones de este factor vitamínico, tal sucede con el Estafilococus aureus, algunas variedades de Shigela, Proteus, etc.

El virus de la influenza necesita para su crecimiento una codehidrogenasa (cozimasa o cofermento) de la amida nicotínica. Lwoff ha demostrado que el virus de este grupo requiere este factor, pero que no puede sintetizarlo de sus comoponen-

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

tes: nicotinamida, ácido adenílico, ribosa y ácido fosfórico. Si se siembra este virus empleando como medio de cultivo sangre de un enfermo carencial en esta vitamina y en cozimasa, como es la sangre de los pelagrosos o como ocurre también con la sangre de los enfermos leucémicos, no se desarrolla, pero bastará el agregado de cozimasa para que el desarrollo se efectúe de manera normal.

Vilter (41) afirma que la cozimasa de Von Euler, y el cofermento de Warburg son las únicas sustancias biológicas activas, en las que se encuentra nicotinamida.

El ácido nicotínico, y en especial la nicotinamida, aumenta la motilidad y las secreciones digestivas en general, y gástrica en particular.

Spies y colaboradores, han probado que el ácido nicotínico aumenta la secreción gástrica en forma análoga a la histamina, aún cuando aumenta en mucho más proporción la cantidad total del jugo gástrico segregado, que la del ácido clorhídrico. Cuando se da ácido nicotínico por vía parenteral, se produce una acción vagotónica, que estimula el jugo gástrico y cuando la dosis es algo grande o se trata de sujetos sensibles, se manifiesta intolerancia, sobreviniendo náuseas, vómitos, dolores abdominales, etc.

Según Lorenzo Velásquez (42) la nicotinamida aumenta la absorción grasa.

Las inyecciones de nicotinamida producen disminución de la presión sanguínea, por vasodilatación vascular, principalmente de tipo periférico; la frecuencia de los latidos cardíacos aumenta ligeramente; en individuos sensibles se notan trastornos vasomotores, seguidos de picazón y quemadura en los miembros superiores, pesadez y opresión en la cabeza, etc., aún tomando la vitamina por vía gástrica.

El sistema nervioso central necesita nicotinamida en la debida proporción para que su funcionamiento se realice en condiciones satisfactorias. Seldfridge comprobó en sujetos de edad avanzada, que habían perdido la capacidad auditiva e intelectual, una notoria mejoría después de administrr en días seguidos ácido nicotínico.

Bodansky (2) dice que el efecto sobre el sistema nervioso, es específico sólo en la psicosis producida por la pelagra, no habiendo ninguna mejoría en la psicosis no pelagrosa. Youmans (45) afirma que la psicosis pelagrosa debe referirse a una perturbación en el sistema enzimático cerebral.

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

INFLUENCIA DE LA NICOTINAMIDA SOBRE LA HIPERGLUCEMIA DE LA DIABETES ALOXANICA

Desde que Jacobs empleó aloxano para producir diabetes experimental, se han buscado substancias químicas antagonistas, que al impedir la acción diabetógena, hagan vislumbrar la existencia de un remedio eficaz de la diabetes.

De ahí el interés de connotados investigadores, de dedicarse a experimentar sustancias cada vez más diversas con el fin de hallar una que pueda, junto con la Insulina, combatir esta dolencia.

Fué en 1939 que Ledrut (25) comprobó la posible acción de ácido nicotínico y su amida respectiva, sobre la glucosa sanguínea, para lo que inyectó a conejos por vía intravenosa 0.010 miligramos por kilogramo de peso corpóreo, comprobando acción hipoglucémica que duraba 7 a 8 horas. La administración también se efectuó por vía bucal en los mismos animales de experimentación, obteniéndose hipoglucemia aunque en forma más tardía.

Gobell (13), en 1941, informó que la nicotinamida en dosis de 0.100 miligramos por vía intravenosa, en niños, producía disminución de glucosa en la sangre, en un promedio de 21.3 por ciento.

Poumeau, Delille y Fabiani (31) ensayaron en 1943, en diabéticos, la nicotinamida por vía endovenosa, administrando 0.100 miligramos por kilo de peso, llegando a establecer que la glucemia aumentaba en algunos casos y que en otros la hipoglucemia nicotinamídica era muy ligerísima, pues, en un sujeto con glucemia de 2.65 por mil, después de administrarle nicotinamida tuvo 2.70 y al cabo de 2 horas la glucemia fué de 2.63 por mil.

Gaebler (14) ha expuesto que las células de la levadura de cerveza metabolizan la glucosa muy activamente, suponiéndose que puedan contener sustancias de valor en el tratamiento de la diabetes, pues se conocen los efectos benéficos cuando se la administra por vía oral. En 1923, Collip preparó de varias fuentes, incluyendo la levadura de cerveza, extractos que administrados por vía subcutána disminuyeron el azúcar de la sangre de conejos normales y perros pancreatomizados, controlando la glucosuria en estos últimos.

Wode (44), en 1947, informó sobre el efecto de la nicotinamida en la diabetes. Seis adultos diabéticos, se estabilizaron sin insulina, pero con una dieta de 1,800 calorías; la edad de los enfermos fluctuaba entre 40 y 50 años. La tolerancia al azúcar se probó después de pocos días de observación; la dosis de nicotinamida empleada fué de 600 mg. durante 14 días, después de los cuales se determinó la glucemia, que no reveló variación alguna. No obstante la gran dosis de nicotinamida, pocas reac-

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

ciones se observaron, siendo las más constantes calor, bochornos, temblores, escozor en la cara y extremidades. En ningún caso la curva de tolerancia de azúcar mejoró, y la concentración de esta en la sangre fué regular y constante.

Banerjee (3), en 1947, estableció una posible relación entre la nicotinamida y la producción de diabetes por aloxano. Observó que la niacina y dos de sus derivados: Acido piridil-dicarboxilo y 2-fenilquilonin-4- carboxílico, impiden la acción diabetógena del aloxano.

Estas investigaciones comenzaron con la observación que el 1-2 dimetil'4-amino-4 (d-l1 - ribitil amino) benzeno que se condensa con el aloxano "in vitro" para formar riboflavina, también impide la acción diabetógena del aloxano "in vivo". La acción de la niacina y sus dos derivados se explicaría por poseer un grupo carboxílico y el anillo piridínico.

Indica Banerjee al valorar el efecto de la niacina con sus derivados de acción similar, que dichos compuestos son solamente eficaces, cuando se administran con el aloxano y que la niacina es compuesto químico, que tiene efecto químico, farmacodinámico y nutritivo.

Highet y West (23), en experimentos realizados en 1949, observaron que el clorhidrato de metiltionina (Azul de metileno) impide la acción diabetógena del aloxano cuando se administra antes que éste, e influye sobre la glucemia, disminuyendo el azúcar de la sangre, cuando se administra a ratas previamente diabetizadas con aloxano.

La dosis de azul de metileno fué de 1 c.c. de una solución al 1% y la de aloxano, 150 miligramos por kilogramo de peso. Estas comprobaciones las verificó en el Perú, Francisco Guzmán Román (15).

Sachchidrananda y Chosh (36), en 1949, tratando de dilucidar la acción farmacodinámica de la nicotinamidad, realizaron experimentos en sujetos diabéticos y sanos. Administraron por vía venosa a 17 individuos diabéticos, una dosis de 500 miligramos de nicotinamida al 10%, no encontrando acción definida sobre la glucemia, apreciada cada media hora después de la inyección.

El mismo experimento efectuado con 6 individuos no diabéticos, probó que la inyección de nicotinamida, prácticamente influye muy poco sobre el azúcar de la sangre y los cuerpos cetónicos de la misma.

Arnaldo Lazarow, John Liambies y Anne Hean Tausch (26), de Cleveland, son los que han estudiado con más hondura el antagonismo farmacológico de la nicotinamida sobre el aloxano, en su actividad diabetógena.

En una nota preliminar, Lazarow informó que la nicotinamida en dosis de 7.5 mgs. por kg. por vía endovenosa, en ratas, y precediendo a una dosis diabetogénica de aloxano ejercía acción competitiva en 14, sobre un total de 18 animales; en

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

cambio, 20 sobre 21 animales inyectados sólo con aloxano presentaron diabetes.

Pocos meses mas tarde, Banerjee informó que el ácido nicotínico administrado por vía endovenosa en ratas, a dosis de 100 mg. por kilogramo, antes de administrar aloxano (100 mgs. por kg.) había impedido que se presentase diabetes en 5 de 5 conejos sometidos al experimento. Cuando ambas dosis, tanto de ácido nicotínico como de aloxano, se aumentaron a 200 mgs. por kg., no actuó en ninguno de los 3 conejos que sirvieron de experimento. Banerjee informó también que cuando el ácido nicotínico y el aloxano se aplican juntos por vía intraperitoneal, en ratas y en dosis de 100 mgs. diarios por kilogramo de peso, durante tres días, no se produce diabetes; mientras que la inyección intra-peritoneal de aloxano solamente (100 mgs. por kg.) produjo diabetes al cuarto día.

Los experimentos de Banerjee, no parecen concluyentes, desde el momento que la inyección de una sola y única dosis de aloxano (200 mgs. por kg.) por vía intra-peritoneal provoca diabetes en solo 75% de las ratas inyectadas, y que dosis de 100 mgs. por kg. solo rara vez la producen. Aunque las dosis repetidas de aloxano tienen efectos acumulativos, los experimentos de Banerjee deben aceptarse con cierta cautela, desde que sólo empleó 5 animales.

Hard y Carr (21) informaron que solo el 60% de 13 conejos tuvieron diabetes cuando se les inyectó dosis de 100 mg. de aloxano.

Emerson (11) y sus colaboradores han informado que la inyección intra-peritoneal de levadura pentanucleótida en dosis de 350 mgs. por kilogramo, impide eficazmente en las ratas empleadas en los experimentos, la acción diabetógena del aloxano. El antagonismo es más manifiesto cuando el pentanucleótido se inyecta una hora o más, antes de la dosis de aloxano, teniendo en cuenta que el número de los animales sometidos al experimento fué reducido, y que la "respuesta" a una dosis dada de aloxano era variable de uno a otro, para establecer de manera concluyente los resultados, se juzgó que era indispensable efectuar estudios en escala mucho más amplia.

La nicotinamida se disolvió en agua, en concentraciones que oscilaban entre 0.25 y 0.75 mg. por c.c. Teniendo en cuenta que el ácido nicotínico posee una solubilidad limitada, se le disolvió en agua caliente a una concentración de 0.25 mg. por centímetro cúbico. y la solución se dejó a 37°C. antes de proceder a inyectarla. Se administraron por vía endovenosa en la vena de la cola de la rata, en dosis que oscilaron entre 2.5 y 7.5 mg. por kilogramo, y en un volumen de 1 c.c. por cada 100 gramos de peso de la rata. El aloxano se preparó en solución al 1% y 2%. En los primeros experimentos Lazarow, empleó ratas de diversas especies y el aloxano lo administró por vía endovenosa a la dosis de 40 mg. por kg. entre 1 y 60 minutos después de

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

la sustancia protectora. La diabetes se presentó en casi todos los animales. En otros experimentos todas las ratas habían estado en ayuno desde 48 horas antes y el aloxano se redujo a 20 mgs. por kg.; con esta dosis se produjo la diabetes en la casi totalidad de los animales inyectados.

Cada lote de animales se dividió en tres grupos. Aproximadamente 1|3 de ellos fué inyectado con aloxano más nicotinamida; otro tercio con ácido nicotínico y aloxano y el tercero y último, sirvió como control del aloxano. En estas condiciones tan controladas, murieron 26 de las 28 ratas (93%), desarrollando diabetes cuando se inyectó el aloxano en proporción de 20 mgs. por kg. Los animales se sometieron previamente a "calentamiento", para producir vaso-dilatación de las venas de la cola. Dicho calentamiento sirvió a la vez para facilitar tanto las inyecciones endovenosas, cuanto la extracción de sangre. En muchos casos se llevaron a cabo determinaciones en serie, de la glucemia a 1, 3, 24, 48 y 72 horas, y alguna vez a intervalos de 9 días.

Se usó el método Folin-Malmros para determinar la concentración de azúcar en la sangre. Se consideraban diabéticas a las ratas, cuando la glucemia a las 48 horas excedía de 150 mgs. por cada 100 c.c. Y se consideraron diabéticos a los animales que murieron antes de las 48 horas, cuando la glucemia tuvo la típica respuesta hiper-hipo-hiperglucémica.

Cuando la nicotinamida se inyectó a ratas sanas en dosis de 7.5 mgs. por kg. antes de una dosis diabetógena de aloxano (40 mg. por kg.), 12 de las 34 ratas empleadas en el experimento (35%), tuvieron síntomas de diabetes. En cambio, 25 de 38 animales sometidos a control (89%), a los cuales se inyectó solo aloxano, tuvieron diabetes. La glucemia promedio de los animales inyectados con nicotinamida, que tuvieron diabetes, fué 25 % menor que la de los controles diabéticos. Cuando se redujo la dosis de nicotinamida a 2.5 mg. por kilogramo, administrándola minutos antes que el aloxano, hubo 74% de diabéticos. Sinembargo, si el intervalo entre las inyecciones de nicotinamida (200 mg. por kg.) y de aloxano se aumentó a 60 minutos, solo 15 % de las ratas se diabetizaron. El ácido nicotínico inyectado en dosis de 2.5 mg.|kg. unos minutos antes que el aloxano, no prdujo protección apreciable, pues 79% de diabetizaron.

El resultado, comparando ácido nicotínico y nicotinamida en condiciones de cuidadoso control, reveló que cuando la nicotinamida se inyecta a ratas en ayuno en dosis de 2.5 mg. por kg., 60 minutos antes que el aloxano (20 mg.|kg.) 8 de las 23 ratas (35%) tuvieron diabetes, y concentración sanguínea del azúcar de 230 mgs. por 100 cc. menos que los controles o "testigos" de diabetes aloxánica.

Cuando se inyectó ácido nicotínico en dosis equivalente a 2.5 mg. por kg. 60 minutos antes que el aloxano, 15 entre 27 ratas (58 %) se diabetizaron.

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

Lazarow y colaboradores, sostienen que la nicotinamida, en dósis de 7.5 mg. por kilogramo de peso, inyectada por vía intravenosa y precediendo a una dosis diabetógena de aloxano, protege 68 por ciento de 34 ratas. Cuando la dosis de nicotinamida fué de 2.5 mg. por kilo, no hubo protección significativa, aunque precediese inmediatamente al aloxano. Sinembargo, aumentado el intervalo entre la nicotinamida y la inyección de aloxano a 60 minutos, se obtuvo protección más marcada.

El ácido nicotínico solo antagonisa la acción diabetógena aloxánica, cuando se dá 60 minutos antes que el aloxano. Siendo la nicotinamida más efectiva contra la diabetes aloxánica, que el ácido nicotínico.

INVESTIGACIONES EFECTUADAS E INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

La acción que tiene la nicotinamida sobre la diabetes aloxánica, la estudié utilizando al conejo como animal de experimentación, habiendo trabajado sobre doce conejos, seis de cada sexo, con un peso variable de 1,150 a 2,360 gramos.

La dosis de aloxano fué de 100 a 150 miligramos por kilogramo de peso corpóreo, dosis capaz de producir diabetes experimental.

La nicotinamida usada fué la conocida con el nombre de "Vi-Nicetal" Wander, proporcionada galantemente por intermedio de su representante en Lima "La Química Suiza S. A."; las ampollas de 1 cc. contienen 0.100 miligramos de la amida del ácido piridin-beta-carbónico y se administró por vía parenteral. Se emplearon dosis de 0.005, 0.010 y 0.015 miligramos, por kilo de peso del animal.

La administración, tanto del aloxano como de la nicotinamida, se hizo por vía intravenosa, utilizando la vena marginal de la oreja, previo frotamiento con xilol, para provocar la ingurgitación de dicho vaso venoso. Las muestras de sangre se recogieron en tubos de prueba, secos, que contenían fluoruro de sodio, como anticoagulante. La sangre se tomó al comenzar el experimento para determinar la glucemia inicial, luego media hora después de la administración del aloxano, para determinar la hiperglucemia aloxánica y finalmente a la hora de inyectar nicotinamida, continuando las determinaciones cada 2, 3, 4, 5, 12 y 24 horas.

La glucemia se cuantificó, siguiendo la técnica de la XIV edición de la Farmacopea norte-americana (12).

Los resultados hallados, se indican a continuación:

Primer experimento.— Conejo macho de 1,150 gramos de peso, con glucemia inicial de 135.6 mg. por ciento. La dosis de aloxano inyectada fué de 100 mg. por kilogramo de peso

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

corpóreo; la de nicotinamida de 0.005 mg. La Glucemia en este primer animal, así como en los restantes, se determinó después de 30 minutos de la inyección de aloxano, y luego se continuó cada 1, 2, 3, 4, 5, 12 y 24 horas de la nicotinamida.

La dosis de aloxano produjo hiperglucemia que disminuyó después de la nicotinamida; a las 24 horas sobrepasó en algo, a la glucemia inicial. El animal vive.

Segundo experimento.— Conejo macho de 2,350 gramos de peso; con glucemia inicial de 129.9 mg. por ciento. Dosis de aloxano 100 mg. por kilogramos de peso; dosis de nicotinamida de 0.005 mg. En este animal la glucemia aumentó ligeramente, y el aumento se mantuvo hasta la cuarta hora, no obstante la nicotinamida y después de hiperglucemia; a las cinco horas entra en hipoglucemia, de la que no sale hasta morir después de 24 horas, con 56.5 mg. por 100.

Tercer experimento.— Conejo macho de 2,360 gr. de peso, con glucemia inicial de 124,3 mg. por ciento. La dosis de aloxano 150 mg. por kg. de peso. En este animal la glucemia aumentó rápidamente y se mantuvo la hiperglucemia hasta las cuatro horas en que no quiere comer, a la quinta hora se inició disminución de la glucosa sanguínea, muriendo a las siete horas, con convulsiones, coma y todos los síntomas de hipoglucemia inexorable y mortal.

Cuarto experimento.— Conejo macho de 1,300 gr. de peso, con glucemia, inicial de 139 mg. por ciento. La dosis de aloxano fué 150 mg. por kg. de peso; la de nicotinamida de 0.010 mg. El animal presentó a los 30 minutos de administrado el aloxano, gran hiperglucemia, que llegó al máximo a las tres horas, para luego disminuir, presentando a las 24 horas cifras ligeramente superior a las que se encontró antes de inyectar aloxano. El animal vivió.

Quinto experimento.— Conejo macho de 1,150 gr. de peso, con glucemia inicial de 124,3 por ciento. La dosis de aloxano, fué de 150 mg. por kg. de peso; la de nicotinamida de 0.015 mg. Este animal presentó a las cinco horas una cifra glucémica igual a la inicial; a las 12 horas el azúcar sanguíneo disminuye considerablemente y antes de las 24 horas el animal muere con síntomas hipoglucémicos.

Sexto experimento.— Conejo macho de 1,350 gr. de peso; glucemia inicial 135,6 mg. por ciento. La dosis de aloxano fué de 150 mg. por kg. de peso; la de nicotinamida de 0.015 mg. En este animal la hiperglucemia provocada por el aloxano fué fugaz, ante la inyección de nicotinamida. A las dos horas la hipoglucemia fué de 50.8 mg. por 100, se presentaron convulsiones que hicieron imposible la extracción de la sangre de la vena marginal de la oreja, por lo que se recurrió a extraerla directamente del corazón. El animal murió.

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

Sétimo experimento.— Conejo hembra de 1,700 gr. de peso; glucemia inicial 141,2 mg. por ciento. La dosis de aloxano fué de 100 mg. por kg. de peso. la de nicotinamida de 0.005 mg. La hiperglucemia aloxánica fué manifiesta pero discreta. La nicotinamida hizo disminuir desde la segunda hora la hiperglucemia previamente producida por el aloxano y se mantuvo en cifras compatibles con la vida.

Octavo experimento.— Conejo hembra de 1,200 gr. de peso; glucemia inicial 130 mg. por ciento. La dosis de aloxano fué de 100 mg. por kilogramo de peso; la de nicotinamida de 0.005 mg. Después de la ligera hipoglucemia post-aloxánica, a la primera hora se produce aumento de glucemia que se mantiene hasta las 24 horas, no obstante la dosis de nicotinamida. El animal sobrevivió.

Noveno experimento.— Conejo hembra de 1,350 gr. de peso; glucemia inicial de 130 mg. por ciento. La dosis de aloxano fue de 150 mg. por kg. de peso; la de nicotinamdia de 0.010 mg. La reacción hiperglucémica post-aloxánica, fué moderada y solo duró una hora, después comenzó a disminuir la glucemia hasta alcanzar la cifra de 19.9 mg. por 100, muriendo a las cuatro horas de administrada la nicotinamida en estado hipoglucémico característico.

Décimo experimento.— Conejo hembra de 1,650 gramos de peso; glucemia inicial 124.3 mg. por ciento; dosis de aloxano 150 mg. por kilogramo de peso; nicotinamida 0.010 mg. Se produce hiperglucemia aloxánica que dura dos horas; después comienza a disminuir y no obstante la evidente hipoglucemia, el animal se mantiene vivo a las 24 horas. La nicotinamida fué factor de evidente hipoglucemia.

Undécimo experimento.— Conejo hembra de 1,400 gramos de peso; glucemia inicial 118.6 mg. por ciento. Dosis de aloxano 150 mg. por kilogramo de peso; nicotinamida 0.015 mg. Después de administrar aloxano, se produjo hiperglucemia que dura una hora; a continuación de la nicotinamida, disminuyó la hiperglucemia, produciéndose franca hipoglucemia, mortal a las 8 horas del experimento, con convulsiones.

Duodécimo experimento.— Conejo hembra de 1,700 gramos de peso; glucemia inicial 135.6 mg. por ciento. Dosis de aloxano 150 mg. por kilogramo de peso; nicotinamida 0.015 mg. En este animal se nota que después del aumento de la glucosa, por el aloxano, el azúcar sanguíneo vuelve a la normal a peso; glucemia inicial de 130 mg. por ciento. La dosis de alola hora de inyectar nicotinamida. Luego la glucemia sigue disminuyendo paulatinamente. Este animal se muestra inapetente, enflaquece y finalmente muere a los 3 días.

Se resumen enseguida los resultados obtenidos, tanto en conejos machos como hembras, teniendo en cuenta el peso, cantidad de aloxano y nicotinamida inyectadas, así como también

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

RESULTADOS EN ANIMALES MACHOS

Conejo No.	Peso en gramos	Dósis Nicotind. mg./kg.	Dósis Aloxan mg./kg.	Glucemia inicial	Glucosa sanguínea expresada en miligramos por ciento								
					Aloxan	Después de inyectar nicotinamida							
					1/2 h.	1 hora	2 h.	3 h.	4 h.	5 h.	12 h.	24 h.	Observs.
1	1,450	0.005	100	135.6	180.8	152.5	73.4	73.4	79.1	79.1	84.7	152	V.
2	2,350	0.005	100	129.9	135.6	146.9	146.9	141.2	129.9	152.5	67.8	56.5	M.
3	2,360	0.010	150	124.3	254.2	282.5	226	220.3	197.7	113	——	——	M.
4	1,300	0.010	150	139	319.8	393.3	523.2	506.2	421.5	324.4	415.5	331.1	V.
5	1,150	0.015	150	124.3	299.4	316.4	237.3	237.3	169.5	124.3	73.3	——	M.
6	1,350	0.015	150	135.6	293.8	96.1	50.8	——	——	——	——	——	M.

RESULTADOS EN ANIMALES HEMBRAS

Conejo No.	Peso en gramos	Dósis Nicotind. mg./kg.	Dósis Aloxan mg./kg.	Glucemia inicial	Glucosa sanguínea expresada en miligramos por ciento								
					Aloxan	Después de inyectar nicotinamida							
					1/2 h.	1 hora	2 h.	3 h.	4 h.	5 h.	12 h.	24 h.	Observs.
1	1,700	0.005	100	141.2	186.4	192.1	158.2	152.5	135.6	141.2	152.5	163.8	V.
2	1,200	0.005	100	130	124.3	107.2	141.2	146.9	158.2	192.1	180.8	152.5	V.
3	1,350	0.010	150	130	146.9	118.6	28.2	66.5	19.9	——	——	——	M.
4	1,650	0.010	150	124.3	282.5	152.5	124.3	62.1	56.5	79.1	90.4	84.7	V.
5	1,400	0.015	150	118.6	231.6	124.3	62.1	56.5	——	33.9	——	——	M.
6	1,700	0.015	150	135.6	158.2	135.6	113	79.1	73.4	73.4	67.8	56.5	M.

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

los porcentajes de glucosa obtenidos en las diferentes horas que duraron los experimentos.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se puede establecer que la nicotinamida tiene acción hipoglucemígena duradera hasta 24 horas, cuando se emplea en conejos previamente diabetizados con aloxano.

, En los conejos, tanto hembras como machos, la dosis de 0.005 mg. de nicotinamida por kilo de peso del animal, les afecta a éstos muy poco cuando están diabetizados; la dosis de 0.010 mg. es la que más conviene para esta clase de experimentos, pues, cuando se emplearon dosis de 0.015 mg. de nicotinamina, los conejos murieron con síntomas de franca hipoglucemia.

Los animales se encontraban en estado de buena salud y alimentados con dieta conveniente para esta clase de experimentos.

Todos los animales tuvieron aumento de glucemia al administrar aloxano, excepto en el conejo hembra del octavo experimento, cuya glucemia después de la inyección de aloxano estuvo por debajo de la glucemia inicial.

Buscando la explicación del mecanismo mediante el cual la nicotinamida antagonisa la acción diabetógena aloxánica, no parece que pueda existir una reacción química directa con el aloxano, pues según lo sostiene Lazarow (26), si hubiera de tener lugar una reacción directa inter-relacionada, se podría esperar un efecto máximo al inyectar la nicotinamida inmediatamente antes que el aloxano; pero desde que aumentando el intervalo para aplicar la inyección de aloxano, aumenta, la eficacia protectora de la nicotinamida, podría parecer, mas bien, que dicha capacidad protectora es el resultado de una reacción secundaria.

CONCLUSIONES

1a.— Se ha estudiado por primera vez en el Perú, la acción que ejerce la nicotinamida sobre la hiperglucemia aloxánica del conejo.

2a.— La nicotinamida tiene acción hipoglucemígena en conejos diabetizados con aloxano.

3a.— Los conejos hembras son más sensibles a la acción del aloxano y nicotinamida que los conejos machos.

4a.— La acción de la nicotinamida se aprecia de manera marcada, tres horas después de administrarla a los conejos, al cabo de las cuales la glucemia tiene tendencia a aumentar.

5a.— He empleado como dosis de nicotinamida 0.005, 0.010 y 0.015 mg. por kilogramo de peso; encontrando como dosis óptima 0.010 mg.

6a.— La nicotinamida fué impotente, en algunos conejos, para impedir que apareciesen los síntomas de la hipoglucemia grave (reacción bifásica) con convulsiones, coma y muerte.

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

BIBLIOGRAFIA

1.— Arévalo Padilla Heine: Acción del aloxano sobre la glucemia del conejo.— "La Crónica Médica".— Vol. 67.— Pág. 149.— Lima 1950.

2.— Bodansky Meyer y Bodansky Oscar: Bioquímica de la enfermedad.— Pág. 533.— México 1942.

3.— Banerjee S.: Effect of certain substances on the prevention of diabetogenic action of alloxan.— "Science".— Vol. 106.— Pág. 128.— Washington D. C. 1947.

4.— Bovarnick M. R.: Chemical and biological assays of the nicotinamide - like substance formed in heated mixtures of asparagine and glutamic acid.— "Journal Biological Chemistry".— Vol. 149.— Pág. 301.— Baltimore 1943.

5.— Chichizola Olazo Yolanda: Influencia de la riboflavina sobre la diabetes aloxánica del conejo.— "La Crónica Médica".— Vol. 70.— Pág. 77.— Lima 1953.

6.— Chipoco Herrera Sara: Influencia del aloxano sobre la calcemia y potasemia del conejo.— "La Crónica Médica".— Vol. 72.— Pág. 25.— Lima 1955.

7.— Corran H. S., Green D. E. and Straub F. B.: On the catalytic function of heart flavoprotein.— "Biochemical Journal".— Vol. 33.— Pág. 793.— London 1939.

8.— Deulofeu V. y Marenzi A. D.: Curso de Química Biológica.— Pág. 423.— Buenos Aires 1948.

9.— Dixon M. and Zerfas L. G.: The role of coenzymes in dehydrogenase system.— "Biochemical Journal".— Vol. 34.— Pág. 371.— London 1940.

10.— Ellinger P. and Harwick S. W.: The nicotinamide saturation test. — "The British Médical Journal".— Pág. 672.— London 1947.

11.— Emerson G. A., Ewing P., and Thomas T. B.: Antagonism of the diabetogenic action of alloxan by pentanucleotide in the rat.— "Texas Reports on Biology and Medicine".— Vol. 4.— Pág. 452.— Galveston 1946.

12.— Farmacopea Americana: U. S. P.: Edición XIV.— Washington D. C. 1950.

13.— Gobell O.: Die funktion des nicotinsaureamid im Kohlchydrats toffwechsell.— "Zeitschrift gesamte experimentelle Medizin".— Vol. 109.— Pág. 96.— Amsterdam 1941.

14.— Gaebler O. H. and Ciszewski W. E.: Effects of yeast or water soluble vitamins in experimental pancreatic diabetes.— "Endocrinology".— Vol. 36.— Pág. 227.— Boston 1945.

15.— Guzmán Román Francisco: Influencia del azul de metileno en la acción diabetógena del aloxano.— "La Crónica Médica".— Vol. 70.— Pág. 61.— Lima 1953.

16.— Gale E. F.: Factors influencing the enzymic activities of bacteria. "Bacteriolcgical Reviews".— Vol. 7.— Pág. 139.— Baltimore 1943.

17.— Green D. E.; Knox, W. E. and Stumpf P. K.: A flavoprotein from yeast.— "Journal Biological Chemistry".— Vol. 138.— Pág. 775.— Baltimore 1941.

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

18.— Hoffman - La Roche, Inc. División Internacional.— Pág. 23.— Nutley, New Jersey 1947.

19.— Hutchens J. P., Jandorf B. J. and Hastings A. B.: Synthesis of diphosphopyridine nucleotide by chilomonas paramecium.— "Journal Biological Chemistry".— Vol. 138.— Pág. 321.— Baltimore 1941.

20.— Hass E., Horecker B. L. and Hogness T. R.: The enzymatic reduction of cytochrome C. Cytochrome C. reductase. —"Journal Biological Chemistry".— Vol. 136.— Pág. 747.— Baltimore 1940.

21.— Hard W. L. and Carr C. J.: Experimental diabetes produced by alloxan.— "Procedings of the Society for Experimental Biology and Medicine".— Vol. 55.— Pág. 214.— New York 1944.

22.— Handler Philir: The effect of excesive nicotinamide feeding on rabbits and ginea pigs.— "Journal Biological Chemistry".— Vol. 154.— Pág. 203.— Baltimore 1944.

23.— Highet Doris M. and Best E. S.: The effects of methylene blue in preventing alloxan diabetes and in lowering the blood sugar of alloxan diabetic rats. —"Journal Biological Chemistry".— Vol. 178.— Pág. 521.— Baltimore 1949.

24.— Knox E. and Grosman W. I.: A new metabolite of nicotinamide. — "Journal Biological Chemistry".— Vol. 166.— Pág. 391.— Baltimore 1946.

25.— Ledrut M. J.: Metabolisme des glucides. Action de extractes de levadure. Action de l' acide nicotinique.— "Bulletin Societé Chimique Biologique".— Vol. 22.— Pág. 321.— París 1940.

26.— Lazarow A., Liambies A. B. and Tausch A. J.: Protection Against diabetes with nicotinamide.— "The Journal of Laboratory and clinical Medicine".— Vol. 36.— Pág. 249.— Saint Louis 1950.

27.— Marenzi A. D.: Bioquímica Analítica Quantitativa.— Pág. 965.— Buenos Aires 1947.

28.— Madrid Gutierrez Manuel: Variaciones de la Ascorbinemia del conejo diabetizado con aloxano y con distintos regímenes alimenticios.— "La Crónica Médica".— Vol. 70.— Pág. 61.— Lima 1953.

29.— Parnas J. K.: Co-enzimatic reactions.— "Nature".— Vol. 151.— Pág. 577.— London 1943.

30.— Perlzweig W. A., Rosenn and Pearson P. B.: Comparative studies in niacin metabolism the fat of niacin in man, rat, dog, pig, rabbit, ginea pig, soat sheep and calf.— "Journal of Nutrition".— Vol. 40.— Pág. 453.— Philadelphia 1951.

31.— Pomeau - Delille G. et Fabiani: Action de la nicotinamide sur la glucemie de l' homme normal et du diabetique.— "Comptes rendus des Séances de la Societé de Biologie".— Vol. 137.— Pág. 285.— París 1943.

32.— Palacios Suares Irene: Variaciones del glutation sanguíneo por acción del aloxano.— "La Crónica Médica".— Vol. 71.— Pág. 217.— Lima 1954.

33.— Rosemberg H. R.: Chemistry and Phisiology of the Vitamins.— Pág. 238.— Philadelphia 1945.

34.— Rubinstein D. and Shekun L.: Nicotinic acid requeriments of insects biological test of nicotinic acid.— "Nature".— Vol. 143. —Pág. 1046.— London 1939.

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

35.— Santos Ruiz J. M. Rotllant de F.: Vitaminas y Hormonas.— Pág. 52.— Madrid 1943.

36.— Sachchidrananda B. and Chosh N. Ch.: Effect of nicotinamide on blood sugar and blood acetone bodies of diabetic and normal subjet. "Journal Biological Chemistry".— Vol. 177.— Pág. 789.— Baltimore 1949.

37.— Schienk K. T.: Enzimatic reactions involving nicotinamide and its related compounds.— "Advances in Enzimology".— Vol. V.— Pág. 207. — New York 1945.

38.— Straub F. B.: Isolation and properties of a flavoprotein from heart muscle tissue.— "Biochemical Journal".— Vol. 33.— Pág. 787.— London 1939.

39.— Trager W.: Nutrition of invertebrates.— "Physiological Reviews". — Vol. 21.— Pág. 1.— Baltimore 1941.

40.— Torres Valdivia Angel: Influencia del aloxano sobre la sodemia y del sodio sobre la diabetes aloxánica.— "La Crónica Médica".— Vol. 69.— Pág. 209.— Lima 1952.

41.— Vilter R. W. Wilter S. P. and Spies T. D.: Relationship between nicotine acid and codehydrogenase (Cozymase).— "Journal American Medical Association".— Vol. 112.— Pág. 420.— Chicago 1939.

42.— Velazquez B. Lorenzo: Farmacología y Terapéutica de las Vitaminas.— Pág. 283.— Madrid 1941.

43.— Vargas Zavala Juan: Antagonismo farmacológico entre dimercaptopropanol y aloxano.— "La Crónica Médica".— Vol. 67.— Pág. 223.— Lima 1950.

44.— Wade J. Renry: Nicotinamide and diabetes Mellitus.— "British Medical Journal".— Vol. 86.— Pág. 414.— London 1947.

45.— Youmans B. John: Nutritional Deficiencys.— Pág. 77.— Nashville, Tennssee 1941.

46.— Zegarra Manrique Frida: Variaciones de la colesterolemia del conejo por influjo del aloxano.— "La Crónica Médica".— Vol. 68.— Pág. 21.— Lima 1951.

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América