

R. esp. Fisiol.  
Tomo V. núm. 1, páginas 47 a 55, 1949.

Laboratorio de Fisiología  
Facultad de Medicina de Santiago  
(Director: Prof. Dr. R. Domínguez Sánchez)

## **Estudio de los movimientos de la vesícula biliar de cobayo aislada. Su comportamiento frente a la acción de vitaminas hidrosolubles\***

por D. Acuña Lagos

(Recibida para publicar el 31 de Julio de 1948)

Una de las propiedades más interesantes del tejido muscular, es la facultad que tiene de cambiar de forma, lo que implica una aproximación de sus dos extremos. Distinguimos dos clases de tejido muscular: a) estriado-esquelético-voluntario. b) no estriado-liso-involuntario. Las diferencias entre ambos son de índole anatómica, química y fisiológica. Dentro de las características generales del tejido muscular, consideramos el tono, con lo cual se indica un cierto grado de acortamiento que en el músculo liso es independiente de los impulsos que puedan llegar de los centros nerviosos. Un órgano constituido por tejido muscular liso y que ha sido el punto de partida de nuestras investigaciones, es la vesícula biliar. En el cobayo tiene un tamaño relativamente grande. Por experiencia de otros investigadores y las nuestras realizadas en 105 animales, observamos las siguientes características: en el animal joven — 1-3 meses — en el momento de ponerla al descubierto y repleta de bilis, tiene un aspecto transparente y liso, observándose a su través, con buena luz, las ramificaciones de los pequeños vasos. En el animal adulto y viejo, es rugosa en la mayor parte de

\* Este trabajo es un resumen de tesis doctoral realizada bajo la dirección del Dr. R. Sánchez Calvo, Profesor. Adjunto de Fisiología en la Facultad de Medicina de Santiago, habiendo recibido valiosos consejos del Dr. R. Domínguez Sánchez, actualmente Catedrático de la citada asignatura. A ellos mi mas profundo agradecimiento. Las vitaminas utilizadas han sido proporcionadas desinteresadamente por «PRODUCTOS ROCHE», por lo que expreso mis sinceras gracias.

los casos y no transparente. Presenta una coloración gris rojiza. Los planos musculares de la vesícula han sido estudiados especialmente por Ranvier (1); presenta un plano muscular pegado al peritoneo y otro a la mucosa. La disposición de ambas capas musculares es la de una red de mallas ovales o elípticas que es la óptima para que pueda producirse una retracción sobre todos los diámetros. La inervación se realiza por intermedio del sistema nervioso vegetativo, vago y simpático.

Según Chiray y Pavel (2) la función fundamental de la vesícula biliar es la contractilidad y como dicen muy bien estos a. a. esta función, desde el punto de vista anatómico, es indiscutible. Pero, a partir de los trabajos de Lyon (3), se ha negado a la vesícula, por algunos autores, el poder contráctil. Sin embargo, en la actualidad esta función está demostrada, habiendo contribuido a ello las investigaciones de Boyden, Lieb y Mac Whorter, Loepe, Chiray y Pavel, etc. Por nuestra parte, hemos realizado la correspondiente aportación en este sentido.

Chiray y Pavel estudiaron, en la vesícula biliar aislada, los movimientos espontáneos, así como su comportamiento frente a la acción de diversas drogas. Pero ha sido Laborde (4) el primero que, en 1874, estudió la respuesta de la vesícula biliar a la acción de agentes químicos, utilizando el ácido nítrico. Según Chiray y Pavel, existen tres tipos de contracciones: 1), contracción lenta; 2), pequeñas contracciones; 3), contracciones de tipo intermedio entre las dos primeras. Según Baimbridge y Dale (5), las contracciones espontáneas son solamente las pequeñas de Chiray y Pavel, no mencionando las lentas. George M. Higgins, Karl Deissler y Frank C. Man (6) han estudiado los movimientos de la vesícula biliar de cobayo aislada y de perro y la respuesta a diversos agentes. Frederic T. Jung y Harry Greengard (7) estudiaron la respuesta de la vesícula biliar aislada, a diversas substancias, así como las contracciones espontáneas, utilizando vesícula de cobayo fresca — recién obtenida — y sometida a refrigeración. Las conclusiones de estos a. a. son: 1) No hay diferencia entre las vesículas vacías y las llenas y tampoco en el lavado de la vesícula por dentro. 2) La acetilcolina origina una contracción fuerte. 3) La vesícula sometida a temperaturas bajas durante un cierto tiempo es más activa que la fresca.

*Objeto de este trabajo.*—1. Por ser la vesícula biliar un órgano que ha sido estudiado bajo tantos puntos de vista, no existe aún mucho acuerdo entre los distintos investigadores, no habiéndose realizado estudios sobre la acción de las vitaminas sobre dicha vesícula aislada, por lo que consideramos de interés el realizar nuestra aportación personal en este sentido.

2. Las vitaminas son factores que cada día tienen más reconocida su importancia en Clínica Humana y, considerando que la Fisiología Animal es la base de la Clínica, y si pensamos que la vitamina B<sub>2</sub>, por ejemplo, se acumula en gran cantidad en el hígado y se elimina en gran parte con la bilis, deseamos investigar el efecto que algunas vitaminas ejercen sobre la vesícula aislada, con el fin de deducir aplicaciones a la Clínica Humana que ulteriores estudios pudieran demostrar.

3. Siendo de gran interés el poder determinar el punto de acción de las vitaminas — sobre la terminación nerviosa o fibra muscular —, emprendimos nuestras investigaciones con el fin de realizar una aportación más en este sentido.

### Material y Técnica

Nuestro material ha sido la vesícula biliar de cobayo, utilizando 105 animales de ambos sexos. De este número hemos separado un grupo de 73 para obtener resultados constantes en condiciones fijas. En el otro grupo de 32 investigamos variaciones del líquido de inmersión — Tyrode, Locke, Sollman, etcétera —, variaciones de temperatura, de tiempo de inmersión, de exposición al frío (vesículas refrigeradas), etc. El medio de inmersión utilizado por nosotros, y que consideramos mejor para esta clase de experiencias, es el de Sollman y Rademaekers. La composición es la siguiente: cloruro sódico, 9 gramos; cloruro potásico, 0,42 grs.; cloruro cálcico, 0,12 gramos; bicarbonato sódico, 0,3 grs. Glucosa, 1 gr. para 1,000 centímetros cúbicos de agua destilada. La cantidad de líquido utilizado ha sido de 100 c.c. a temperatura de 37-38°. El pH entre 7-3 y 7-5. Las vesículas refrigeradas se han mantenido en la nevera a una temperatura de 2 a 3° durante 8-9 horas. El método de registro es el conocido para obtener los movimientos pendulares del intestino aislado. La vesícula biliar se obtiene del cobayo «in vivo». Una vez aislada, se limpia perfectamente de todo tejido hepático y se vacía de la bilis que pudiera contener, colocándola en una cápsula con líquido de inmersión a temperatura ambiente durante 30 a 35 minutos, para después inmergírla a temperatura adecuada. Las vitaminas utilizadas han sido: B<sub>1</sub> (Benerva), B<sub>2</sub> (Beflavina), C (Redoxon) y P.P (Benicot). Las dosis empleadas: B<sub>1</sub>, 10 mg.; B<sub>2</sub>, 5 mg.; C, 0,10 grs.; P.P, 0,10 grs. Primeramente registramos las contracciones espontáneas — en los casos en las que las obtenemos — y después, por medio de una jeringa, haciendo resbalar por las paredes del vaso, se introduce la solución vitamínica correspondiente. Hemos estudiado también la acción de las vitaminas, simultáneamente, sobre dos vesículas, una fresca re-

ción obtenida y otra después de refrigeración. Las dos vesículas se inmergieron al mismo tiempo, haciendo el registro por medio de dos palancas independientes.

### Resultados

*Estudio de los movimientos espontáneos de la vesícula fresca y refrigerada.*—En el comienzo de nuestras experiencias, los movimientos espontáneos no siempre los obteníamos, y hemos observado que un factor importante que contribuye a manifestarlos es el tiempo que llamamos «de adaptación» (T. A.). El T. A. es el tiempo transcurrido entre la obtención de la vesícula y la inmersión a la temperatura de 37-38°, durante el cual la vesícula permanece en una cápsula en el líquido de inmersión a temperatura ambiente. El T. A. más adecuado es,

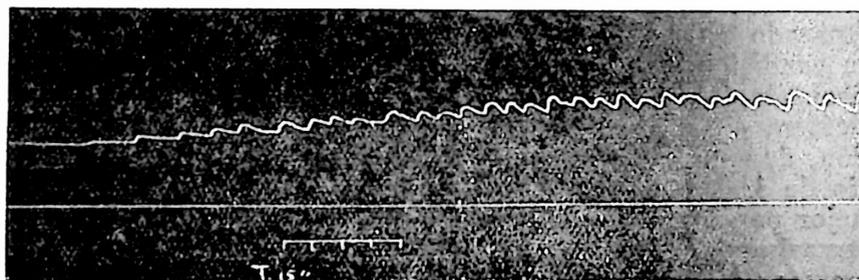


Figura 1. — Contracciones rápidas simultáneas a la contracción lenta.

por término medio, de 30-35 minutos. Cada vesícula presenta su T. A., ya que hay algunas que presentan movimientos inmediatamente de la inmersión con un T. A. de 15 minutos, y otras precisan hasta 45 minutos. Las contracciones espontáneas observadas son de dos clases: a) contracciones lentas; b) contracciones rápidas — fig. 1 —. En las vesículas sometidas a refrigeración observamos también estos dos tipos de contracciones, y en la mayor parte de los casos, una mayor actividad contráctil de la fibra lisa vesicular.

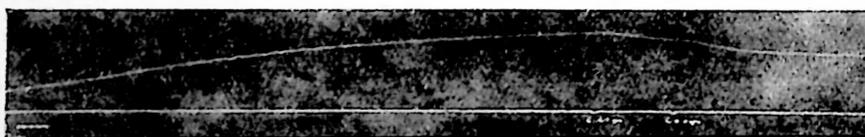


Figura 2. — Contracción lenta y pequeñas contracciones rápidas. La vitamina C produce inhibición de los movimientos y relajación de la vesícula.

*Acción de la vitamina B<sub>1</sub>-C-B<sub>2</sub> y P.P sobre la vesícula fresca.*—En la fig. 2 se observa cómo la vitamina C produce relajación de la vesícula con inhibición de los movimientos espontáneos. El mismo resultado se obtiene con las demás vitaminas.

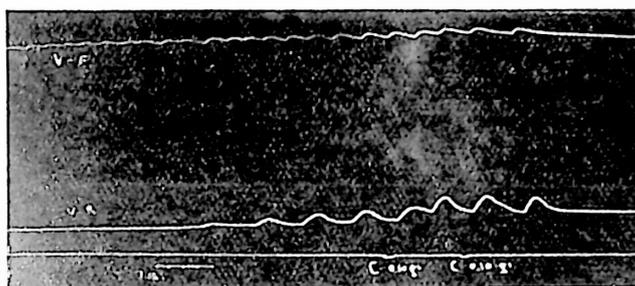


Figura 3 — Las dos vesículas aisladas presentan contracciones rápidas y contracción lenta, siendo inhibidas por la acción de la vitamina C.

*Acción de las vitaminas estudiadas sobre la vesícula fresca y refrigerada simultáneamente.*—Como indica la fig. 3, existe una mayor acción de la vitamina estudiada, sobre la vesícula refrigerada, obteniendo resultados análogos en las demás vitaminas.

*Acción entre la acetilcolina, cloruro de bario y las vitaminas sobre la vesícula biliar.*—Este capítulo lo hemos realizado respondiendo a nuestro tercer objetivo — una aportación más en el estudio del problema del punto de acción de las vitaminas —. Utilizamos la acetilcolina a dosis de 1 cg., y para corroborar estos resultados empleamos también cloruro de bario — 3 centímetros cúbicos sol. 1 por 100 —. La acetilcolina, con toda probabilidad, actúa sobre la propia fibra muscular, y el cloruro de bario parece ser que también actúa sobre la misma fibra lisa (8). En algunas experiencias utilizamos simultáneamente dos vesículas, una recién obtenida y otra refrigerada, para comprobar si existía una respuesta más enérgica bajo esta modalidad experimental.



Figura 4. — Los movimientos espontáneos de la vesícula aislada son inhibidos por la vitamina B<sub>1</sub>, la cual produce al mismo tiempo relajación. Se observa una contracción fuerte por efecto de la acetilcolina. La vitamina B<sub>1</sub> relaja la contracción acetilcolínica.

*Acciones entre la vitamina B<sub>1</sub>-P.P-C y la acetilcolina y el cloruro de bario (Fig. 4).*—La vitamina B<sub>1</sub> produce inhibición de las contracciones y relajación vesicular. La acetilcolina causa una contracción inmediata. Se hacen una serie de paradas con el fin de esperar a que cese la acción acetilcolínica y se pueda apreciar el efecto producido por una nueva dosis de vitamina B<sub>1</sub>. Se observa una ligera relajación, pasando el efecto de la vitamina a los 10 minutos. El mismo resultado hemos obtenido con las vitaminas P.P y C y lo mismo utilizando cloruro de bario, aunque en este caso la contracción originada por esta substancia es más suave.

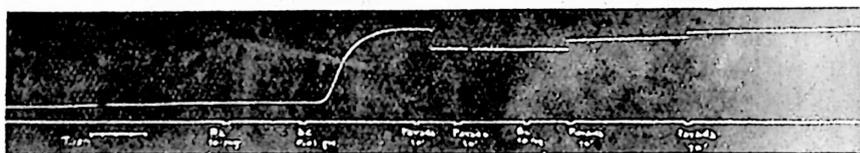


Figura 5. — Contracción fuerte acetilcolínica. Después de pasado el efecto de la acetilcolina queda un estado persistente de la contracción vesicular que es aumentada por una nueva dosis de vitamina B<sub>2</sub>.

*Acciones entre la vitamina B<sub>2</sub> y la acetilcolina y el cloruro de bario (Fig. 5).*—En este caso no se obtienen movimientos espontáneos. La acetilcolina produce una enérgica contracción. Se hacen paradas hasta estabilizar el estado contráctil, haciendo actuar una nueva dosis de vitamina B<sub>2</sub> y observándose un aumento del estado de contracción vesicular. Con el cloruro de bario obtenemos los mismos resultados.

### Discusión

Hemos observado en los movimientos espontáneos de la vesícula biliar aislada la existencia de dos clases de contracciones — lentas y rápidas —. Por esto no somos partidarios de los tres tipos descritos por Chiray y Pavel, que en nuestras experiencias quedan reducidos a los dos citados. En algunos casos no obtenemos movimientos espontáneos de clase alguna. Esto podría hacer pensar en la muerte de la vesícula, pero la respuesta, en los casos en que lo hemos hecho, a la acetilcolina nos demuestra todo lo contrario. Podría ser debido esta falta de contracción a que quedara algún resto de bilis dentro de la vesícula, que inhibiría los movimientos, si pensamos que la bilis actuaría aquí lo mismo que en las fibras intestinales (9), pero hemos dejado a sabiendas, a veces, una pequeña cantidad de bilis y obtuvimos movimientos. En las vesículas sometidas

a refrigeración observamos los mismos tipos de contracciones, y a veces una mayor actividad contráctil. Esto podría explicarse por una inhibición de los procesos químicos y físicoquímicos (según los partidarios de la contracción miógena del intestino), que en el momento de colocar la vesícula a la temperatura de 37-38° se manifiestan acrecidos y aumentados. Sería la respuesta brusca de unos fenómenos que durante cierto tiempo (el de permanencia en la nevera) no pudieron realizarse.

En el curso de nuestras experiencias hemos observado que las vitaminas, al actuar sobre la vesícula aislada, en los casos en que su efecto se manifiesta, conducen siempre a un estado de relajación. Pero en muy pocos casos no obtenemos respuesta y a nuestro parecer es debido a que, si la vitamina produce relajación, es natural que tenga que existir un estado previo de contracción. Pero existe tono — un estado permanente de contracción ligera —, por lo que podríamos suponer que las vitaminas estudiadas no actúan sobre el tono, ya que es preciso, para que se manifiesten sus efectos, un estado de contracción más enérgico. Como se desprende de estas observaciones, el efecto de las vitaminas es más enérgico en los casos en que existen mejores y más fuertes movimientos espontáneos. La acción sobre la vesícula refrigerada no es más enérgica que sobre la fresca, aunque aparentemente parezca ser así, pero ello es debido a que, en general, presenta dicha vesícula una mayor actividad contráctil. En las experiencias realizadas para observar la respuesta sobre una misma vesícula de las vitaminas estudiadas, antes y después del efecto producido por la acetilcolina y el cloruro de bario, obtenemos la conclusión de que la vitamina B<sub>2</sub> actúa sobre una zona distinta que las vitaminas B<sub>1</sub>-C- y P. P.. Estas tres últimas relajan la contradicción producida por la acetilcolina o el cloruro de bario. Por el contrario, con la vitamina B<sub>2</sub> obtenemos resultados opuestos; aumento del estado contráctil.

Podemos considerar en la fibra lisa dos zonas principales: la terminación nerviosa y la propia fibra muscular. El cloruro de bario y la acetilcolina a dosis fuertes, con toda probabilidad actúan sobre la fibra muscular, por lo que la contracción se ejercerá directamente sobre ésta, y podemos considerar en este momento a la fibra bloqueada. Este estado contráctil se puede disminuir empleando una substancia relajante, la cual tendría que actuar con la mayor probabilidad sobre la zona que se encuentra libre: la terminación nerviosa. Podemos por esto considerar que las vitaminas B<sub>1</sub>-C y P.P actúan sobre la terminación nerviosa produciendo relajación de la fibra lisa. Según los trabajos de K. Westphal (10), la excitación simpática inhibe las contracciones vesiculares, por lo que podemos con-

siderar a estas vitaminas como simpácticotropas. Con la vitamina B<sub>2</sub> ocurre lo contrario. Por nuestro trabajo experimental sabemos que esta vitamina, lo mismo que las demás hidrosolubles estudiadas, produce relajación vesicular. En cambio, después de actuar la acetilcolina o el cloruro de bario, origina una contracción o, mejor, un aumento de la ya existente. Si la vitamina B<sub>2</sub> actuara sobre las formaciones nerviosas, es lógico pensar que se comportaría como las demás. Y si admitimos que la fibra muscular está bloqueada por la acetilcolina o el cloruro de bario, podríamos pensar que la vitamina B<sub>2</sub> actuaría sobre las formaciones nerviosas. Pero sabemos que la excitación del parasimpático origina contracción vesicular (10), y sabemos por nuestro trabajo que la vitamina B<sub>2</sub>, cuando actúa sola sobre la vesícula, produce siempre relajación. Podríamos decir que esta vitamina no actúa sobre las terminaciones nerviosas, y que en presencia de la acetilcolina se produce una sumación de estímulos actuando sobre la propia fibra muscular.

### Conclusiones

1. Para que se obtengan, en la mayor parte de los casos movimientos espontáneos de la vesícula biliar aislada de cobayo, es necesario un tiempo de reposo del órgano, que llamamos *tiempo de adaptación*. Por término medio es de 35 minutos.
2. Los movimientos espontáneos observados han sido de dos clases: a) contracción lenta; b) pequeñas contracciones rápidas.
3. Las vesículas refrigeradas, en algunos casos, presentan unas contracciones espontáneas más enérgicas que las frescas.
4. Las vitaminas B<sub>1</sub>-B<sub>2</sub>-C y P.P actúan sobre la vesícula aislada de cobayo, produciendo inhibición de las contracciones y relajación. Todas actúan aproximadamente con la misma intensidad.
5. La acción de las vitaminas no se manifiesta sobre el tono de la fibra lisa vesicular, ya que es preciso, para relajar, un estado de contracción más enérgico.
6. Con toda probabilidad, las vitaminas B<sub>1</sub>-C y P.P actúan sobre las terminaciones nerviosas, siendo simpácticotropas. La vitamina B<sub>2</sub> probablemente actúa sobre la propia fibra muscular.

### Summary

In order to obtain spontaneous movements of the isolated guinea pig bile bladder a period of repose of this organ called adaptation time is necessary in most cases. This is on an average of 35 minutes. The spontaneous movements observed have been of two kinds: slow

contraction and small rapid contractions. Refrigerated bladders show in some cases stronger spontaneous contractions than fresh ones.

Vitamines B<sub>1</sub>-B<sub>2</sub>-C and P.P act on the isolated guinea pig bile bladder producing inhibitions of contraction and relaxation. All act with about the same intensity. The vitamin action does not show itself on vesicular fibre tone, a state of more energetic contraction being necessary for relaxation. Vitamins B<sub>1</sub>-C and P.P act in all probability on the nerve ends, as they are sympathicotropic. Vitamin B<sub>2</sub> acts probably on the muscle fibre itself.

### Bibliografía

1. RANVIER. *Journal de micrographie*, 1886.
2. CHIRAY y PAVEL. «La contractilité de la vesicule biliaire». *Jour de Phisiol. et de Path. gén.*, **23**, 318, 1925.
3. LYON. «Non surgical drainage of the gall tracts». Lea and Febiger. Philadelphia-New-York. 1923.
4. LABORDE. *Bulletin de therapeutique*, p. 282. 1874
5. BAINBRIDGE y DALE. The contractile mechanism of the gallbladder and its extrinsec nervous control. *J. Physiol.*, **33**, 138. 1905.
6. GEORGE M. HIGGINS, KARL DEISSLER y FRANK C. MANN. Tonus rhythmin the isolated gallbladder and the effects of certain drogs. *Am. J. Physiol.*, **102**, 461. 1935.
7. FREDERIC, T. JUNG y HARRY GREENGARD. Response of the isolated gallbladder to cholecystokinin. *Am. J. Physiol.*, **103**, 275. 1933.
8. DIXON. cit. por VELÁZQUEZ. *Terapéutica con sus fundamentos de Farmacología experimental*. 1942.
9. GÓMEZ OCAÑA. Datos para el estudio del peristaltismo intestinal. I. Con. de la A. E. para el P. de las Ciencias. Zaragoza. 47.6. 1908.
10. K. WESTPHAL. cit. por MÜLLER en *Sistema nervioso vegetativo*. 1937.