

**Acciones
farmacodinámicas
de la tiamina
sobre la unión
neuromuscular
de mamífero.**

GUILLERMO ANGUIANO L. *

NELSON CHAVES **

NAIDE TEODOSIO **

LA tiamina, aneurina o vitamina B₁ ha sido estudiada desde los puntos de vista químico, farmacológico y de la nutrición, lo cual ha originado una extensa literatura que va, desde la descripción de los efectos causados por su carencia, hasta los métodos microbiológicos para cuantificarla. Hace algunos años, la tiamina fue considerada como una molécula de gran interés para la neurofisiología, por su influencia en los procesos de transmisión en las sinapsis periféricas. En consecuencia, algunos investigadores ^{9, 14, 15, 19}, trataron de evidenciar que la tiamina tiene una participación importante como *sustancia de acción* en los procesos excitatorios; von Muralt ¹⁶, por ejemplo, ha resumido la evidencia existente respecto a la liberación de tiamina durante la estimulación de los nervios; y Kuhn, Wieland y Huebschmann ⁷ han probado que la acetil-aneurina sintética provoca la contracción de la musculatura lisa del intestino de la rata, de manera semejante a la acetilcolina.

Igualmente se ha estudiado la intervención que tiene la tiamina en la descarboxilación enzimática del ácido pirúvico, así como en la síntesis de la acetilcolina *in vitro* por el tejido nervioso en presencia de ácido pirúvico y de iones de potasio ¹². También existen en la literatura estudios sobre la influencia que ejerce este vitamín sobre la inhibición de la síntesis y de la actividad de la colinesterasa ^{1, 4, 10} y otros datos contradictorios referentes a la supresión de los efectos de

* Instituto de Estudios Médicos y Biológicos. U. N. A. M. Ciudad Universitaria. México, D. F.

** Instituto Alvaro Ozório de Almeida. Universidade do Recife, Pernambuco, Brasil.

la acetilcolina o a la potenciación de los mismos en el corazón de la rana y en el músculo dorsal de la sanguijuela ^{3, 5, 6, 8, 13}.

La ubicación anatómica de este vitamín ha sido precisada por von Muralt ¹⁶ en las vainas de mielina de los nervios. No obstante, según el criterio de Unna y Pick ²¹, no es de esperarse que la tiamina, aún a grandes dosis, ejerza una acción sobre los cilindroejes mielinizados, sino más bien sobre las estructuras no protegidas por la mielina como las sinapsis ganglionares y las uniones mioneurales. Estos investigadores concluyen que la tiamina ejerce un efecto inhibitorio de la transmisión nerviosa en las sinapsis y placas terminales por los resultados obtenidos, *in vitro*, en el músculo recto anterior de la rana y en el músculo liso del intestino de cobayo y de conejo estimulados con nicotina.

El trabajo que se presenta se planeó con objeto de conocer mejor las acciones de la tiamina sobre las uniones mioneurales en una preparación neuromuscular de mamífero (gato) por estimulación del músculo a través del nervio correspondiente, ya que las preparaciones neuromusculares *in situ* se acercan más a las condiciones fisiológicas que las preparaciones aisladas del organismo.

MÉTODO

Se utilizaron gatos anestesiados con dial (0.7 ml./Kg. de peso, por vía peritoneal). Los registros de las contracciones musculares se hicieron en los músculos que se insertan en el tendón de Aquiles, los cuales tiraban contra la tensión de las bandas elásticas de hule de una palanca miográfica. La pata se fijó por medio de brocas insertas en los extremos de la tibia o del fémur. En todos los casos se colocó una cánula traqueal.

Cuando se registraron las contracciones provocadas por la inyección de acetilcolina se empleó el músculo cuádriceps. Las inyecciones se hicieron a través de una aguja hipodérmica roma en el cabo central de la arteria femoral, en dirección opuesta al flujo sanguíneo. Con objeto de dejar como única vía permeable para la acetilcolina a la arteria circunfleja lateral, se ligaron todas las ramas colaterales del tronco femoral. La aguja que sirvió de cánula se conectó a una jeringa provista de una válvula de doble vía; de esta manera fue posible mantener a la jeringa conectada en forma permanente, tanto a la arteria como a un recipiente con acetilcolina a la dilución de 1×10^{-6} , en líquido de Rin-

ger-Tyrode. Al inyectar la acetilcolina, se suspendió momentáneamente la circulación para el músculo cuádriceps por oclusión de la arteria femoral, al mismo tiempo que se abrió una pinza arterial próxima a la aguja. La oclusión se efectuó mediante un hilo colocado por encima de la arteria circunfleja.

En varias ocasiones se emplearon músculos denervados para probar el efecto de la tiamina sobre las contracciones provocadas por la inyección de acetilcolina y por estimulación eléctrica de la masa muscular. La denervación se llevó a cabo por sección del nervio ciático doce a quince días antes del experimento. En este caso, las inyecciones de acetilcolina se hicieron en la arteria mesentérica inferior canulada retrógradamente.

Los estímulos eléctricos fueron invariablemente supramáximos y difásicos, de un estimulador Grass S-4; pero algunas veces se utilizaron choques de apertura de un carrete de inducción. La estimulación se aplicó a la masa muscular directamente (músculos denervados), al cabo periférico del nervio ciático o simultáneamente a las dos estructuras. Los electrodos fueron de plata-cloruro de plata para estimular el ciático y agujas de acero para la masa muscular.

Algunos gatos fueron desprovistos de sus glándulas suprarrenales, y a otros se les destruyó el encéfalo.

En algunos experimentos se registró la presión arterial por medio de una cánula de François-Franck en una arteria carótida; los registros se hicieron con manómetro de mercurio y el líquido anticoagulante fue citrato de sodio al 4%.

La tiamina y la d-tubocurarina fueron disueltas en Ringer-Tyrode, neutralizadas a pH 7.0-7.2 e inyectadas generalmente por vía venosa.

RESULTADOS

Lo primero que llama la atención después de inyectar la tiamina es la reducción en la altura de las contracciones musculares (Fig. 1). Esta reducción se presenta ya, con dosis relativamente pequeñas de 5 a 10 mg. por kilo de peso, y se acentúa hasta que casi desaparecen las sacudidas simples con dosis crecientes de la droga. Este decremento en la altura de las contracciones también se presenta cuando el músculo se estimula a frecuencias altas (Fig. 2).

Condición *sine qua non* para que se presente este efecto sobre las sacudidas musculares, es que el músculo sea activado indirectamente

a través del nervio correspondiente, pues en los músculos denervados con anticipación al experimento, las contracciones permanecen de la misma altura antes y después de administrar el vitamín (Fig. 3). De la misma manera, se observa la ausencia de reducción en las contracciones en músculos cuádriceps puestos en fatiga de transmisión por estímulos aplicados al nervio femoral a una frecuencia de 60 por segundo (Fig. 4). En este caso se observa, como era de esperarse, una caída de

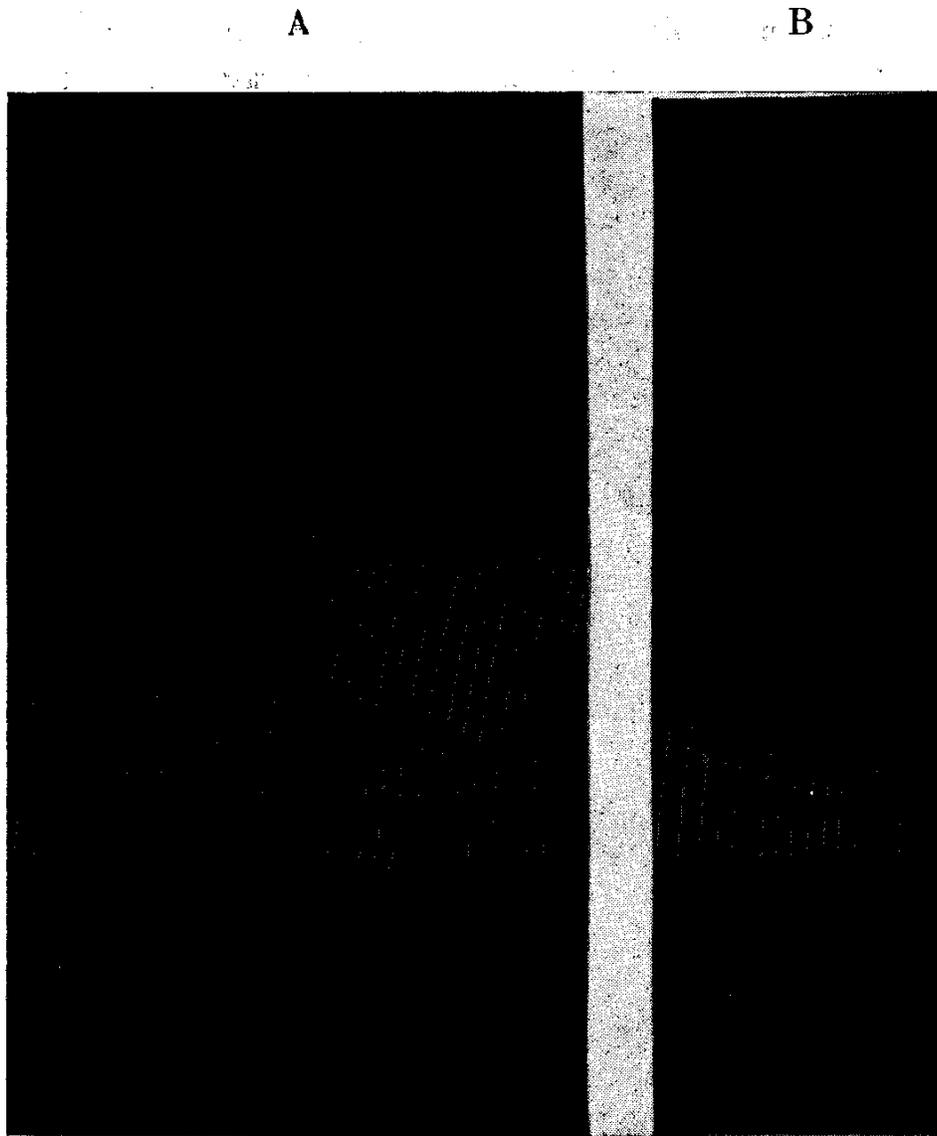


Fig. 1. Reducción de la altura de las respuestas musculares por la influencia de la tiamina

Gato bajo diál. Músculo gastrocnémio estimulado a través del nervio ciático a la frecuencia de 30 estímulos por minuto.

- a). Antes de la inyección de aneurina.
- b). Dos minutos después de administrar 30 mg. de tiamina por kilo de peso en la vena femoral.

la línea basal (pequeña contracción residual) simultáneamente a la inyección del vitamín B₁, y además, que las contracciones a los estímulos aplicados directamente a la masa muscular son de mayor tamaño después de la administración de tiamina.

Para investigar el mecanismo de reducción de las respuestas, se

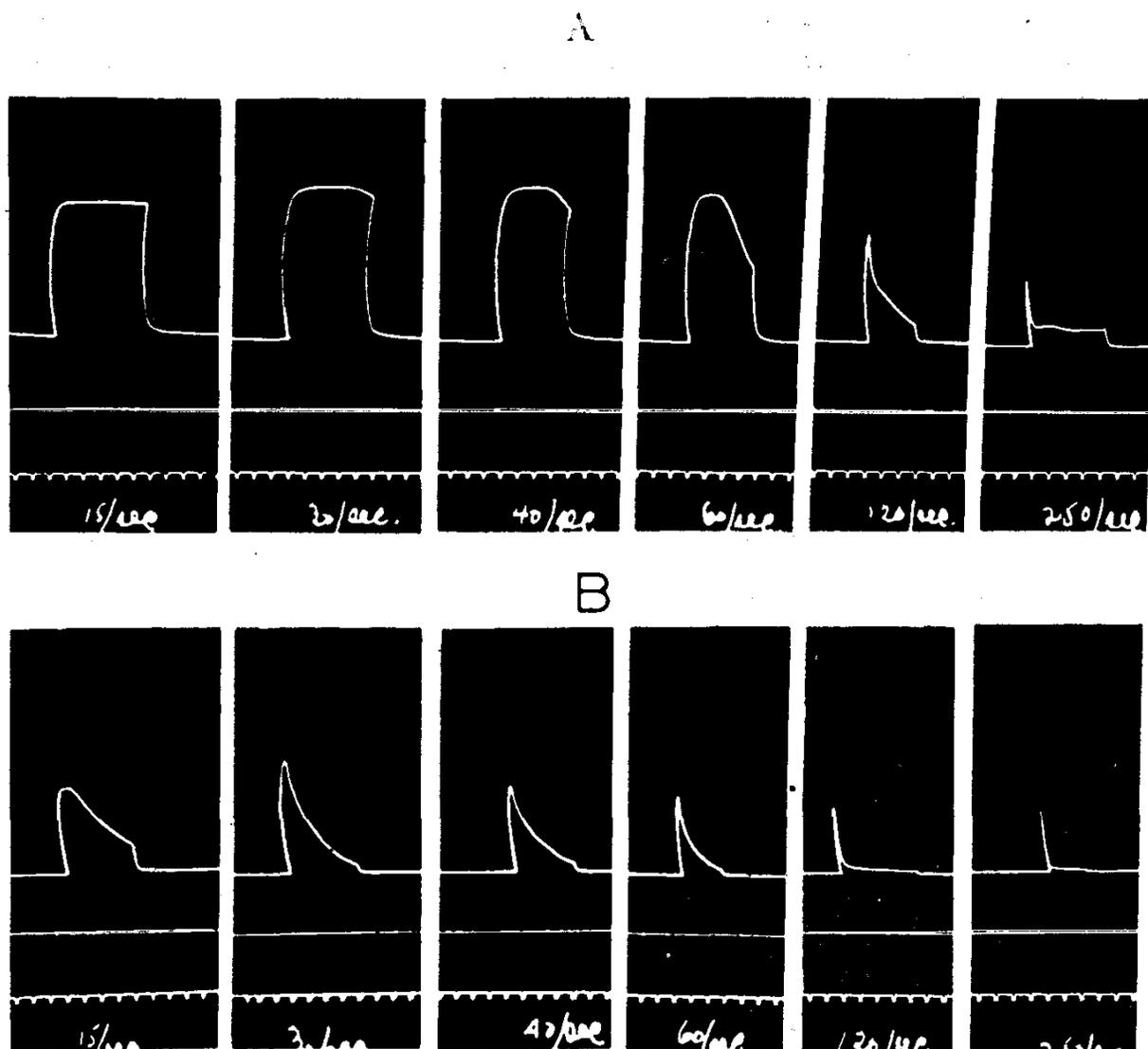


Fig. 2. Influencia de la tiamina sobre las contracciones musculares a estímulos tetanizantes de diversas frecuencias.

Registro de músculo gastrocnemio, en gato bajo dial, a las frecuencias de 15, 30, 40, 60, 120 y 250 pulsos por segundo aplicados al nervio ciático. Los períodos de estimulación fueron de 40 segundos en todos los casos, con un intervalo de reposo de dos minutos entre cada dos de ellos. La señal inferior marca intervalos de 10 segundos.

- a). Antes de la inyección de tiamina.
- b). Tres minutos y medio después de administrar 25 mg. de vitamina B₁ por kilo de peso. Obsérvese la reducción de la altura y la caída tensional pronta de las contracciones.

aplicaron inyecciones de acetilcolina por vía arterial, según la técnica mencionada en la descripción del método. De este modo se pudo precisar que la tiamina obra modificando notablemente, en sentido negativo, las contracciones provocadas por este transmisor químico. Estos experimentos fueron realizados, tanto en músculos gastrocnemios denervados como en cuádriceps normales (Figs. 3 y 5).

El análisis de las gráficas obtenidas con estimulación a frecuencias diversas, mostró hechos interesantes como lo atestigua la figura 2: en primer lugar, una reducción de la altura de las respuestas y en segundo, una caída de tensión muy pronta que da por resultado que los trazos aparezcan como si hubieran sido tomados a frecuencias superiores a las empleadas en realidad; en otras palabras, puede decirse que las respuestas son muy poco sostenidas, aún a frecuencias bajas de estimula-

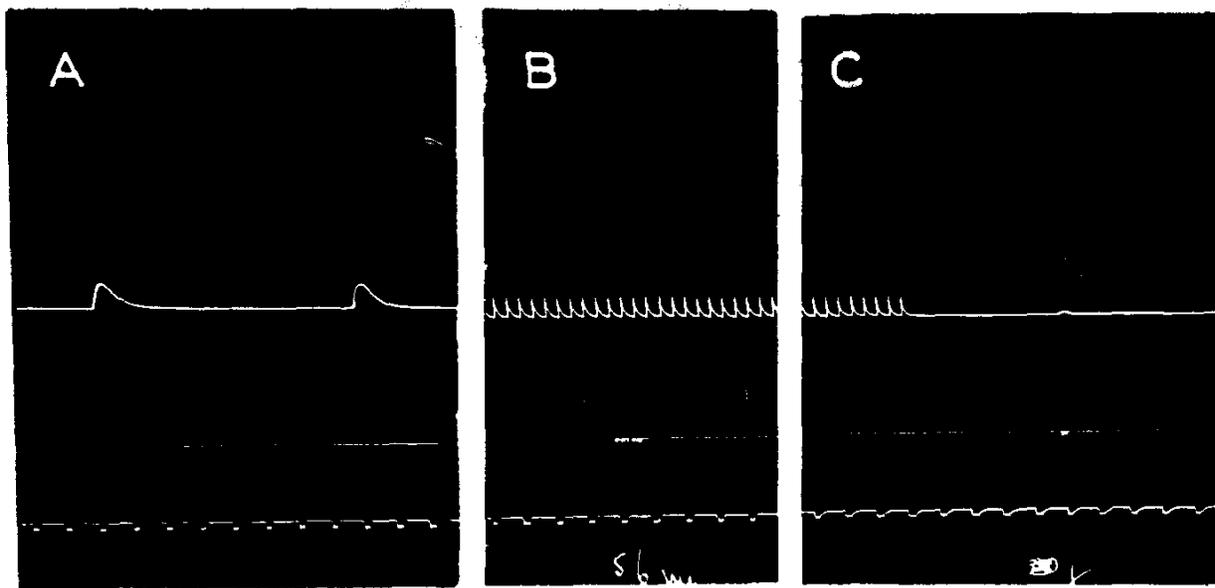


Fig. 3. Respuestas del músculo denervado a la estimulación eléctrica y a la inyección de acetilcolina antes y después de tiamina.

Gato bajo dial. Músculo gastrocnemio izquierdo denervado once días antes por sección del nervio ciático correspondiente. La señal inferior marca intervalos de 5 segundos.

- a). Contracciones provocadas por 2 microgramos de acetilcolina en la arteria mesentérica inferior.
- b). Respuestas a estímulos eléctricos aplicados a la masa muscular a la frecuencia de 30 por minuto. La marca de la señal superior corresponde a la inyección intravenosa de 20 mg. de tiamina por kilo de peso (56 mg.).
- c). Respuestas a estímulos eléctricos iguales que en (b) cuatro minutos después de la inyección de tiamina. La marca de la señal superior indica el momento en que se inyectaron dos microgramos de acetilcolina en la arteria mesentérica inferior. Nótese que las respuestas eléctricas no modificaron su altura, en contraste con la contracción a la acetilcolina, que es apenas perceptible.

ción; la altura y la forma de las respuestas a 10 o 15 estímulos por segundo, es semejante a la que se obtiene a 60 o más choques por unidad de tiempo. Además de los hechos que se acaban de describir, ocurre que se suprimen las llamadas etapas de la transmisión neuromuscular (Rosenblueth ¹⁸), con excepción de la cuarta que parece presentarse prematuramente.

Cuando se inyectó la acetilcolina por vía arterial, en la fase de tensión decreciente de la cuarta etapa de la transmisión neuromuscular, invariablemente se obtuvieron respuestas positivas al mediador (Fig. 6).

Además de los efectos ya señalados, la repetición de períodos cortos de estimulación a una misma frecuencia, produjo un efecto acumulativo, ya que cuando se mandaron salvas de estímulos de duración definida, con intervalos cortos de tiempo entre una salva y la siguiente, las respuestas fueron cada vez más pequeñas y menos sostenidas. La recuperación de la altura de contracción se lograba al prolongar el intervalo de reposo.

En otros experimentos, se exploró la acción de la tiamina sobre

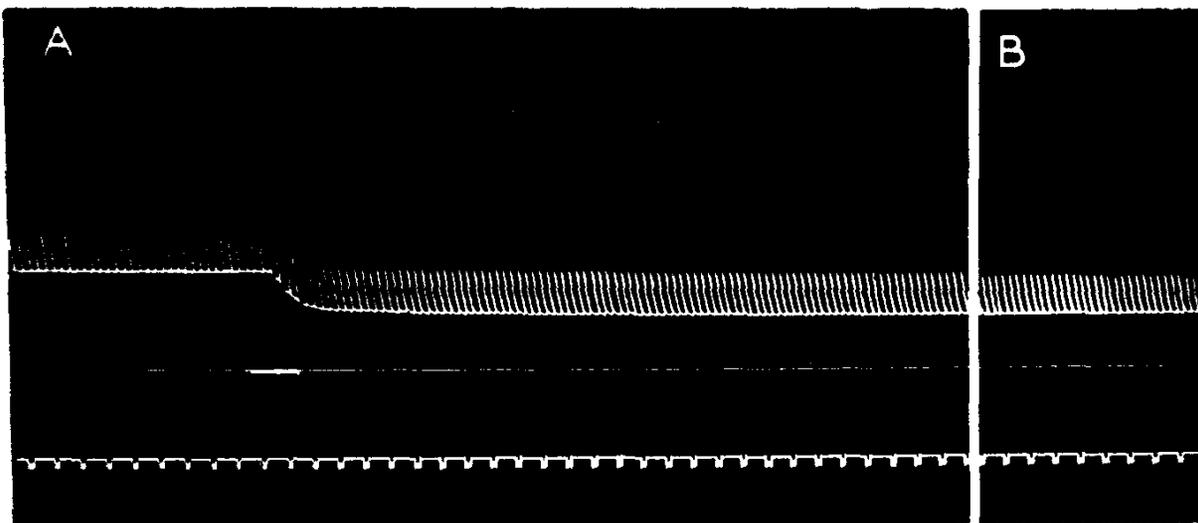


Fig. 4. *Efecto de la tiamina sobre la contracción muscular en un músculo en fatiga de transmisión.*

Gato bajo dial. Músculo gastrocnemio izquierdo estimulado a través del nervio ciático a la frecuencia de 70 pulsos por segundo hasta producir una línea basal de fatiga de transmisión. Las contracciones individuales son causadas por estímulos aplicados directamente a la masa muscular a una frecuencia de 40 estímulos por minuto. La señal inferior marca intervalos de 5 segundos.

- a). La marca de la señal superior indica el momento de inyectar 20 mg. de tiamina por kilo de peso (40 mg). Nótese el descenso de la línea basal.
- b). Cuatro minutos cuarenta y cinco segundos después de (a).

los animales curarizados. La figura 7 muestra que la tiamina ejerce un efecto decurarizante a dosis altas. Este efecto ya había sido descrito para los curarizantes acetilcolinomiméticos por Cheymol y Bourillet ², razón por la cual, los resultados que se comunican en este trabajo, agregan la acción antagónica de la tiamina sobre la d-tubocurarina. La acción decurarizante de la tiamina está seguramente relacionada con

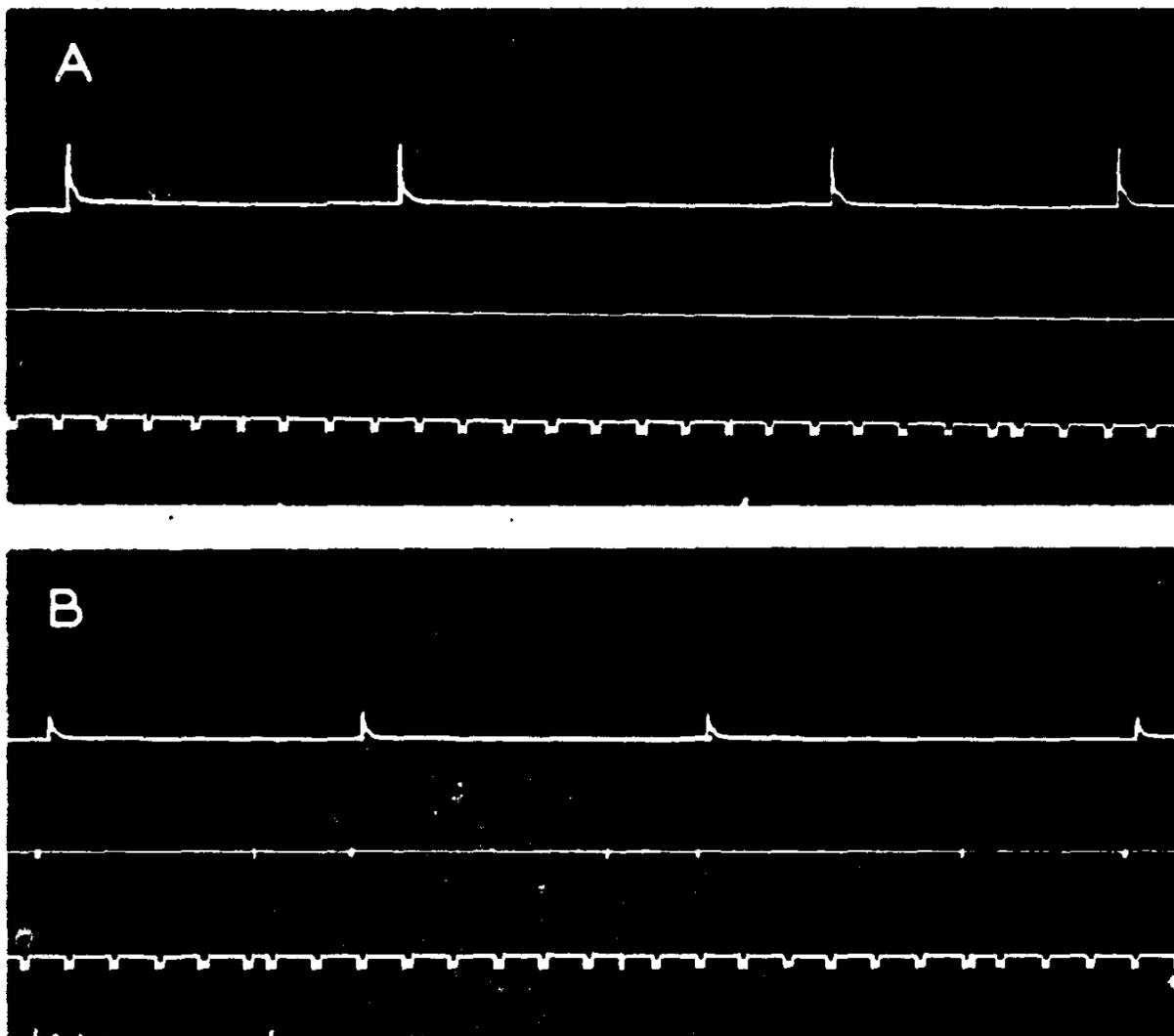


Fig. 5. Respuestas musculares a la acetilcolina antes y después de la administración de tiamina.

Gato bajo dial. Músculo cuádriceps. La marca de la señal superior, previa a la que corresponde a las respuestas musculares, indica intervalos de reposo, con el quimógrafo estacionario de 5 minutos en todos los casos. En la señal inferior: intervalos de 5 segundos.

- a). Respuestas a 10 microgramos de acetilcolina por vía arterial, antes de la inyección de tiamina.
- b). Respuestas a la misma cantidad de acetilcolina un minuto cincuenta segundos después de la inyección intravenosa de 20 mg/kg., de tiamina. Obsérvese la reducción en la altura de las contracciones.

la acción anticolinesterásica, que aunque débil, posee la aneurina ⁴. Todos los efectos son fugaces y reversibles.

Con dosis hasta de 10 mg/Kg. de peso, no pudieron observarse modificaciones importantes de la presión arterial.

DISCUSIÓN

La acción depresora que ejerce la tiamina sobre la contracción muscular fue comunicada por Smith y Sohn ²⁰ en el perro y por Unna y Pick en la rana ²¹. Los primeros investigadores atribuyen esta acción a una parálisis de la unión neuromuscular y los segundos a un efecto inhibitorio sobre la transmisión de los impulsos de nervio a músculo.

Los resultados de este trabajo concuerdan, de una manera descriptiva, con lo comunicado por los investigadores antes mencionados. Sin

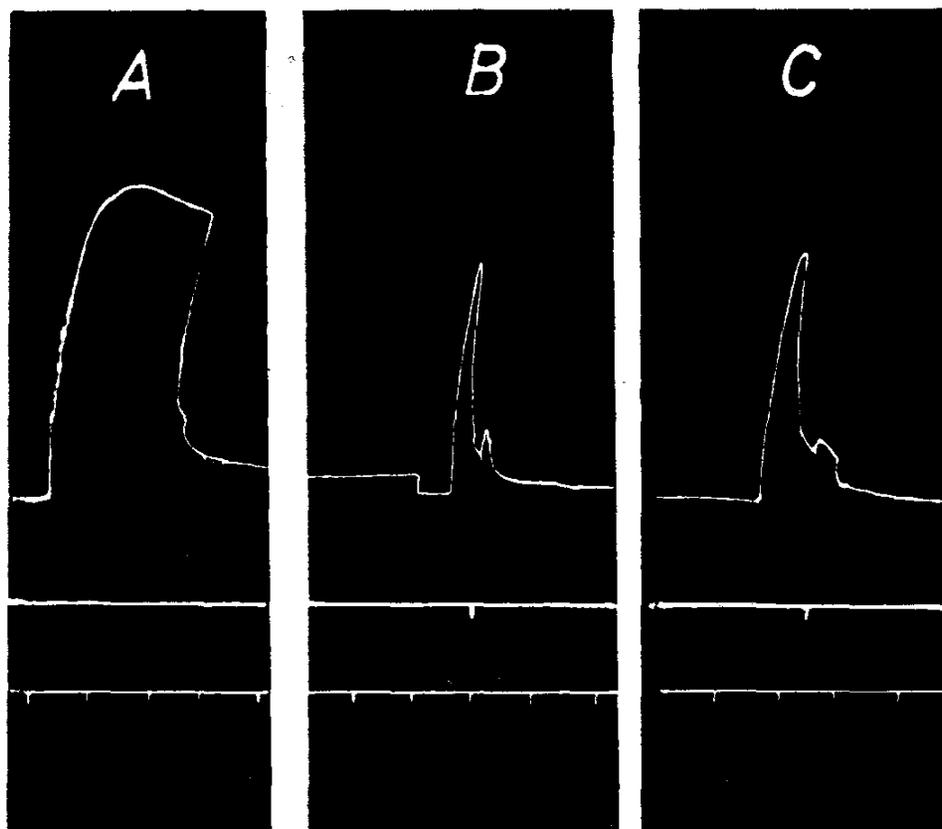


Fig. 6. Respuestas a la acetilcolina en músculo cuádriceps estimulado a la frecuencia de 20 pulsos por segundo.

Gato bajo dial. Estímulos eléctricos aplicados al nervio femoral por períodos de dos minutos. Señal inferior: intervalos de un minuto.

- a). Antes de la inyección de vitamín B.
- b). y c). Eeis y trece minutos después de la inyección de 20 mg. de tiamina kg. por vía venosa, respectivamente. La marca de la señal superior indica el momento de inyectar 10 microgramos de acetilcolina en la arteria femoral.

embargo, no apoyan completamente la interpretación que ellos dan al efecto depresor, ya que si se tratara de una parálisis de las uniones mio-neurales o de una inhibición del proceso de transmisión neuromuscular exclusivamente, la tiamina no actuaría como un agente decurarizante. En efecto, en la figura 7, puede apreciarse la acción antagónica que tiene el vitamín para el curare. Esta acción seguramente no es muy notable debido a que la tiamina ejerce dos efectos opuestos: el primero es la depresión curariforme sobre la contracción muscular y el segundo, la acción anticolinesterásica demostrada por Glick y Antopol⁴ La predominancia del primer efecto sobre el segundo obscurecería en gran parte la decurarización. El efecto sobre las enzimas hidrolíticas de la acetilcolina y la acción curariforme de la tiamina pueden explicarse

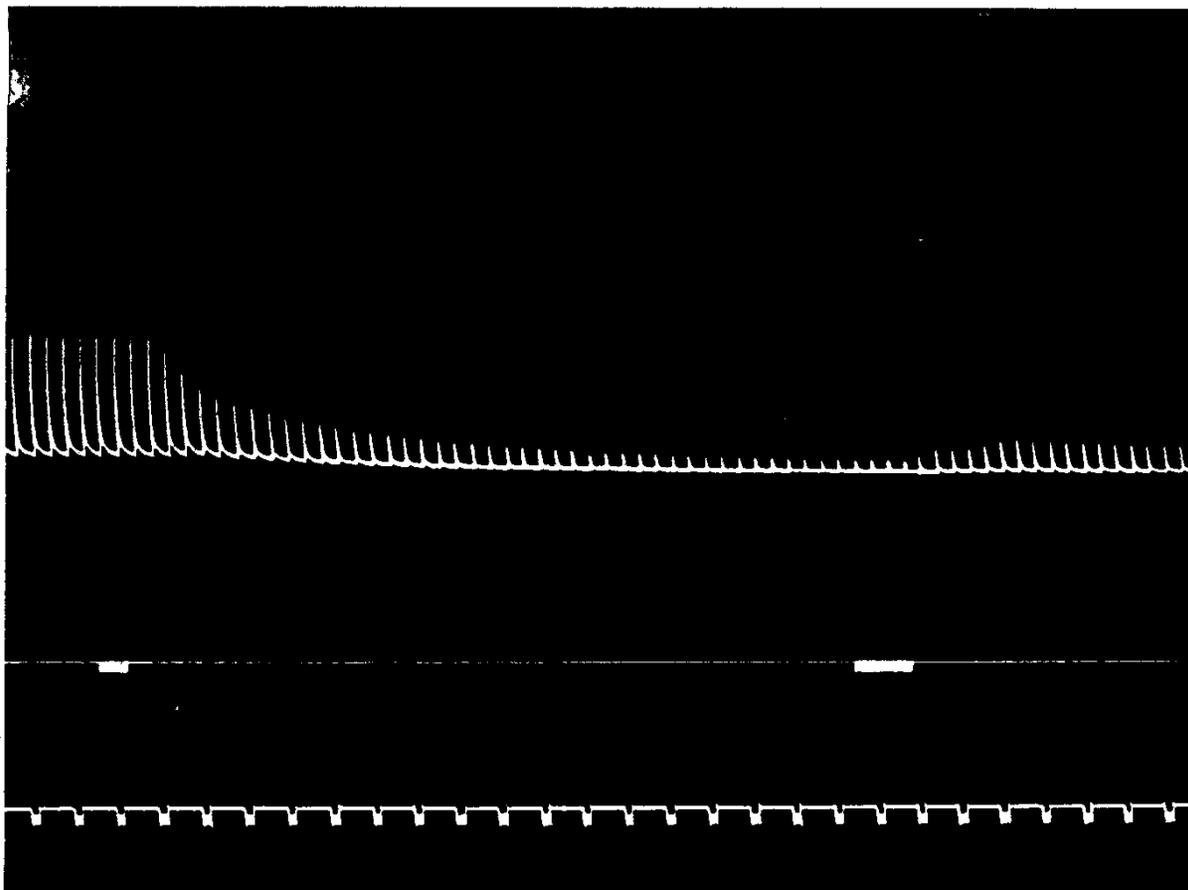


Fig. 7. Efecto descurarizante de la tiamina.

Gato bajo dial. Músculo gastrocnemio. La primera marca de la señal superior indica el momento de inyectar una dosis paralizante de d-tubocurarina. La segunda marca indica el instante en que se administró la tiamina (20 mg. por kilo de peso). Estímulos eléctricos al nervio cítico a la frecuencia de 30 por minuto. La señal inferior indica intervalos de 5 segundos.

si se considera que el vitamín posee la estructura de un compuesto cuaternario de amonio.

Podría argüirse que el efecto decurarizante fuera debido, en estas condiciones, no sólo a una acción anticolinesterásica, sino también a una liberación de adrenalina al administrar el vitamín. Este argumento queda excluído porque la decurarización también se presenta fácilmente en animales cuya secreción médulo-adrenal ha sido suprimida.

La demostración del efecto decurarizante se obtiene con dosis óptimas de curare y tiamina, pues como ya se dijo, la acción depresora de la última, substancia es más intensa que su efecto anticolinesterásico. Así pues, si se acepta que la transmisión del impulso nervioso es debida al mediador acetilcolina en el caso del músculo estriado, la tiamina facilitará la transmisión neuromuscular mediante la inhibición de la colinesterasa.

La reducción en la altura de las contracciones a choques simples y a estímulos tetanizantes podría deberse a varios factores que se analizan a continuación:

a) mayor liberación de acetilcolina por impulso, causada por una aceleración del conjunto de reacciones responsables de la síntesis del mediador; esto traería como consecuencia que la neurohormona alcanzara niveles paralizantes. Con objeto de probar esta hipótesis se procedió a inyectar acetilcolina, a bajas concentraciones, cuando la tensión de un músculo descendía durante la estimulación a 20 choques por segundo. En estos experimentos siempre se obtuvo una respuesta positiva a la acetilcolina, lo cual autoriza a no aceptar la hipótesis planteada.

b) inactivación de los efectos de la acetilcolina por el vitamín mediante la formación de un compuesto inoperante. Esta explicación es improbable porque los efectos descritos se presentan con dosis altas de tiamina y van acentuándose proporcionalmente a medida que se incrementa la dosis del vitamín.

c) la posibilidad de que la reducción de las respuestas musculares fuera la consecuencia directa de hipotensión o isquemia, puede descartarse, debido a que las dosis empleadas del vitamín no produjeron acciones vasomotoras importantes en animales con encéfalo destruído o después de que el efecto hipotensor de la tiamina se había disipado en animales intactos.

d) la acción directa de la tiamina sobre el mecanismo contráctil puede quedar definitivamente eliminada, ya que tanto en músculos de-

nervados como en normales en fatiga de transmisión, la excitabilidad eléctrica de las fibras musculares queda intacta. En el último caso, se obtienen respuestas de mayor amplitud, pero sin que el incremento sea provocado por la acción del vitamín, sino más bien porque ha descendido la línea basal, es decir, porque se parte de un nivel de mayor relajación. Esto permite concluir que la tiamina no ejerce un efecto inotrópico negativo directo (figs. 3 y 4).

e) Otro factor por analizar es la modificación de la excitabilidad química del músculo a la acetilcolina. Las experiencias de este trabajo muestran que tal modificación participa de manera muy importante para producir los efectos registrados, ya que la reactividad del músculo decrece notablemente a la acetilcolina en presencia del vitamín, tanto en músculo normal como en músculo denervado (figs. 3 y 5). Es de notar que Pick y Unna ¹⁷ comunican no haber encontrado modificaciones en las respuestas a la acetilcolina sobre la presión arterial en presencia de tiamina.

f) Finalmente, la participación que pudiera tener un efecto depolarizante de la tiamina sobre la placa o las fibras musculares, como la descrita por Lorente de Nó₁₁ en fibras nerviosas, no se podría valorizar hasta obtener los datos pertinentes. Lo mismo puede decirse acerca de los cambios de permeabilidad o de velocidad de contracción de las fibras musculares que pudieran inducirse en presencia del vitamín.

RESUMEN

Se analizan los efectos de la tiamina en preparaciones neuromusculares de gato.

La tiamina hace decrecer la altura de las contracciones musculares a estímulos aplicados al nervio motor. Esto sucede con choques simples y con frecuencias tetanizantes; pero en este último caso ocurre, además, una caída de tensión más pronta y desaparecen las etapas de la transmisión neuromuscular.

El efecto depresor no aparece en el músculo denervado ni en músculos en fatiga de transmisión, cuando se excita eléctricamente la masa muscular; en cambio, la reactividad a la acetilcolina decrece notablemente. La tiamina muestra un efecto antagónico al de la d-tubocurarina.

SUMMARY

The effects of large doses of thiamine upon muscular responses are studied in cats.

Thiamine depresses muscular contractions when the muscles are excited through their motor nerves. The effect occurs both when single shocks and tetanizing frequencies are applied. In the later case, a more prompt fall of tension also occurs, and the stages of neuromuscular transmission are not apparent.

The depressing effect is absent in denervated muscles and in those put in transmission fatigue; however, the reactivity to acetylcholine decreases markedly. Thiamine shows an antagonistic effect against d-tubocurarine.

REFERENCIAS

1. Antopol W.; Glaubach S., y Glick.: *Choline esterase activity in blood serum and duodenum of beriberi pigeon*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 42:679-683, 1939.
2. Cheymol J., y Bourillet, F.: *Antagonisme de la thiamine et des substances du même groupe vis-à-vis des effets paralytiques musculaires des curarisants acétylcholinomimétiques*. J. Physiologie. 48: 445-447, 1956.
3. Gautier E.: *La libération d'aneurine pendant la stimulation vagale du coeur*. Helv. Physiol. Pharmacol. Acta 8: 195-208, 1950.
4. Glick D., y Antopol, W.: *The inhibition of cholinesterase by thiamine (vitamin B₁)*. Pharmacol. Exper. Therap.: 65:389-394, 1939.
5. Jackson B., y Wald, G.: *The action of thiamine and cocarboxylase upon frog ventricle*. Am. J. Physiol. 135: 464-473, 1942.
6. Kaiser, P.: *Über die Wirkung des Vitamin B₁ auf das isolierte Froschherz*. Pflügers' Arch., 242: 504-507, 1939.
7. Kuhn, R.; Wieland, T., y Heubschmann, H.: *Zur Frage der Chemischen Vermittler im Nerven: Acetylcholin*. Ztschr. f. Physiol. Chem. 259: 48-52, 1939.
8. Läser, S.: *Untersuchungen über den Antagonismus Aneurin-Acetylcholin am Froschherzen*. Internation. Z. Vitam. Forsch. 20: 94-108, 1948.
9. Liechti A.; Muralto A., V. y Reinert, M.: *Über die Freisetzung von Aneurin bei der Erregung des peripheren Nerven*. Helv. Physiol. Acta. 1s 79-88, 1943.
10. Lissák, K.; Kovács, T., y Nagy, E. L.: *Acetylcholin und cholinesterasegehalt von Organen B₁ avitaminotischer und normaler Ratten*. Pflügers' Arch. 247: 124-131, 1944.

11. Lorente de N6, R.: A Study of Nerve Physiology. Part I. Studies from the Rockefeller Institute for Medical Research. 131: Capitulo 4, 1947.
12. Mann, P. J. G., y Quastel, J. H.: Vitamin B₁ and acetylcholine formation in isolated brain. Nature, 145: 856-857, 1940.
13. Minz, B.: The role of humoral agents in nervous activity. Charles C. Thomas Publisher. Springfield, Illinois, 1955.
14. Muralt A., V.: Über den Nachweis von Aktionssubstanzen der Nervenregung. Pflügers' Arch., 245: 604-632, 1942.
15. Muralt A., V.: Über die Freisetzung von Aneurin bei der Nervenregung. Pflügers' Arch. 246: 746-748, 1943.
16. Muralt, A., V.: Thiamine and peripheral neurophysiology. Vitamins and Hormones. 5: 93-118, 1947.
17. Pick E., P. y Unna, K.: Blockade of the nicotine action on the blood pressure by thiazole compounds (sulfathiazole and thiamine). J. Pharmacol. exper. Therap. 87: 138-148, 1946.
18. Rosenblueth, A.: The transmission of nerve impulses at neuro-effector junction and peripheral synapses. The Technology Press of Massachusetts Institute of Technology and John Wiley & Sons, Inc., New York, 1950.
19. Sanz, M. C.: Über die Bildung von Acetylcholin, die Freisetzung von Aneurin und die Stoffwechsel von Peripheren Nerven in vitro Pflügers' Arch. 247: 317-324, 1944.
20. Smith J., A. y Sohn, H.: Pressor effect of thiamine. Am. J. Physiol. 167: 827, 1951.
21. Unna, K. y Pick E., P.: Inhibition of nervous transmission in synapses and end plates by thiamine. J. Pharmacol. Exper. Therap. 81: 294-300, 1944.