

Estimulación eléctrica transmural en la gotera reticular de bóvidos adultos

M. D. San Andrés*, E. Vinagre, F. González, T. Encinas, M. I. San Andrés y C. Rodríguez

Cátedra de Farmacología
Facultad de Veterinaria
Universidad Complutense de Madrid
Madrid (España)

(Recibido el 5 de abril de 1993)

M. D. SAN ANDRÉS, E. VINAGRE, F. GONZÁLEZ, T. ENCINAS, M. I. SAN ANDRÉS and C. RODRÍGUEZ. *Electrical Transmural Stimulation in the Reticular Groove in the Adult Bovines*. Rev. esp. Fisiol., 49 (4), 219-224, 1993.

An *in vitro* study of the smooth muscle of the fore third of the reticular groove bottom was carried out in adult bovines, to determine the most favorable parameters for electrical transmural stimulation (ETS). The mechanical activity of the preparations was registered isometrically and the electric stimuli were applied by means of ring-shaped platinum electrodes. Results show that the response of this tissue to ETS is of a phasic and synchronic nature in accordance with the stimulus. The parameter values necessary to produce a homogeneous, quantifiable and reproducible response were the following: Supermaximum voltage 70-100 V, frequency 30 Hz, pulsing time 4 ms, stimulus time 5 s and intervals between each stimulus 4 min. The intervals among stimuli were 3 min long to establish the frequency curves of 2, 6, 10, 20 and 30 Hz.

Key words: Reticular Groove, Adult bovines, Electrical transmural stimulation.

La gotera reticular, esofágica o *sulcus reticuli* es una estructura anatómica propia de los rumiantes que constituye la primera porción del canal gástrico. Morfológicamente está constituida por dos pliegues o labios (derecho e izquierdo) y entre ambos se encuentra el suelo de la gotera (*fundus*

sulci reticuli). Comienza en el cardias, discurre en posición ventral a la pared derecha del *atrium ventriculi* y finaliza en el orificio retículo-omasal (6).

La gotera tiene capacidad para convertirse en un tubo cerrado y constituir una vía directa de paso de la ingesta desde el esófago al abomaso, evitando su paso por el complejo rumen-retículo. Esta capacidad de cierre se mantiene durante toda la

* A quien debe enviarse toda la correspondencia (Teléfono: 394 38 48. Fax: 394 38 51).

vida, aunque en el animal prerrumiante tiene lugar con cada ingesta y en el adulto sólo se produce de forma esporádica (11). El cierre de la gotera reticular en animales adultos, según estudios previos, se puede deber a un reflejo condicionado (10); a un reflejo de origen buco-faríngeo (11); y a la administración endovenosa de sales de cobre (8) y otras sustancias, como neurotransmisores (2), vasopresina y extractos post-hipofisarios (4, 12).

El propósito de este trabajo es estudiar las condiciones y valores idóneos de los parámetros de estimulación eléctrica transmural que producen una contracción fácilmente cuantificable, homogénea y reproducible de la fibra muscular lisa del suelo de la gotera esofágica de bóvidos adultos.

Material y Métodos

Se utilizaron goteras reticulares de bóvidos adultos recién sacrificados en el matadero Municipal de Madrid.

El aislamiento de los haces de fibras lisas del tercio anterior del suelo de la gotera y el montaje de la preparación se realizaron mediante una adaptación del método de ENCINAS *et al.* (5), (Ringer Tyrode sin glucosa, aireación con carbógeno y 38 ± 1 °C), consistente en colocar las preparaciones en contacto con electrodos de platino en forma de anillo, a través de los cuales se transmitían pulsos eléctricos de onda cuadrada.

Las preparaciones se conectaban a transductores isométricos, se sometían a una tensión inicial de 0,02 N y se mantenían durante 1 h para su estabilización.

Determinación de los parámetros de estimulación. — Para establecer las condiciones idóneas de estimulación eléctrica transmural (uniforme y en escalera) se estudiaron las variaciones de las respuestas obtenidas con diferentes valores de los siguientes parámetros:

Diferencia de potencial (50-100 V); frecuencia (0,8-50 Hz); duración de los pulsos (0,4-8 ms); duración del estímulo (1-8 s); e intervalo entre estímulos 1-4 min).

El cálculo de la energía necesaria para provocar la contracción se realizó de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$E_i = V_{\max} \times T.I.$$

(E_i = energía por impulso (J); V_{\max} = voltaje supramáximo (V); T.I. = tiempo total que dura el estímulo (s). El T.I. se obtuvo a partir de los datos de frecuencia, duración de pulso y duración de estímulo).

Todos los resultados se expresaron como media \pm E.S.M. de un número mínimo de 5 pruebas.

El cálculo de la frecuencia de estimulación efectiva media (FE_{50}) y de la duración de pulso efectivo medio (DPE_{50}) se realizó a partir de la ecuación de la recta obtenida mediante regresión lineal.

La significación estadística de los resultados se calculó mediante la comparación de medias independientes (test de la «t» de Student) considerándose significativos los resultados con $P < 0,05$.

Resultados

Los resultados obtenidos de las pruebas de determinación de los parámetros óptimos para la EET fueron los siguientes:

Estimulación uniforme. — Diferencia de potencial supramaximal: 70-100 V; frecuencia: 30 Hz; duración de los pulsos: 4 ms; duración del estímulo: 5 s; e intervalo entre estímulos: 4 min.

Estimulación en escalera de frecuencias. — Número de impulsos: 5; separación entre impulsos: 3 min; frecuencia: 2, 6, 10, 20 y 30 Hz; y separación entre escaleras: 15 min.

Las preparaciones de la fibra lisa del suelo de la gotera reticular frente a la EET pre-

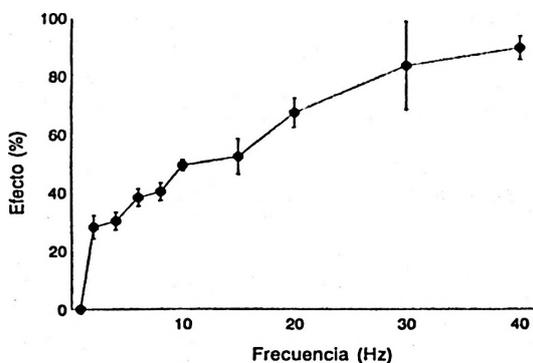


Fig. 1. Influencia de la frecuencia de estímulo (0,8-50 Hz) en la contracción inducida por EET (voltaje supramáximo, 4 ms, 3 min, 5 s) en el músculo liso del suelo de la gotera reticular bovina. Los resultados se expresan como media \pm E.S.M. (n=6).

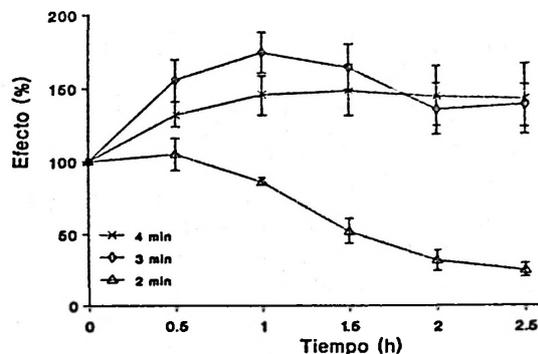


Fig. 3. Influencia del intervalo de estímulo en la respuesta contráctil a la EET (voltaje supramáximo, 30 Hz, 4 ms, 5 s) en el músculo liso del suelo de la gotera reticular bovina. Los resultados se expresan como media \pm E.S.M. (n=6).

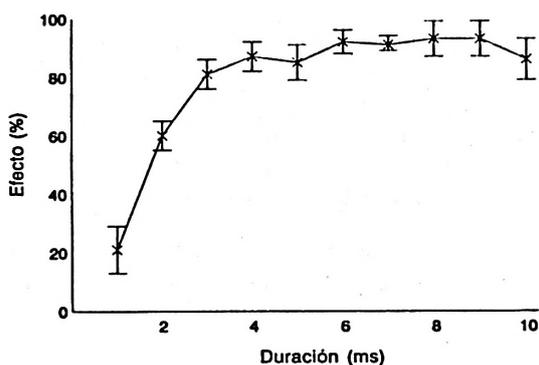


Fig. 2. Influencia de la duración del pulso (0,8-10 ms) sobre la contracción inducida por EET (voltaje supramáximo, 2-30 Hz, 3 min, 5 s) en el músculo liso del suelo de la gotera reticular bovina. Los resultados se expresan como media \pm E.S.M. (n=6).

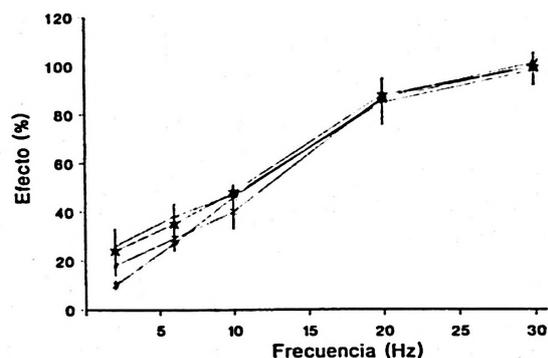


Fig. 4. Efecto contráctil inducido por EET (voltaje supramáximo, 4 ms, 3 min, 5 s) con frecuencias crecientes de estímulo (2, 6, 10, 20 y 30 Hz) en el músculo liso del suelo de la gotera reticular bovina. Los resultados se expresan como media \pm E.S.M. (*primera curva; x segunda curva; * tercera curva; + cuarta curva, separadas 15 min) (n=6).

sentaron una respuesta de tipo excitatorio contráctil, de naturaleza fásica y sincrónica con el estímulo. El cese de la estimulación producía una relajación rápida seguida, en algunos casos, de una segunda contracción que terminaba descendiendo al tono inicial.

El efecto de la aplicación de frecuencias crecientes (0,8; 2; 4; 6; 8; 10; 15; 20; 30; 40;

50 Hz) producía un incremento directamente proporcional de la respuesta contráctil. A partir de la regresión lineal de estos datos se calcularon: $FE_{\min} = 2$ Hz, $FE_{\max} = 40$ Hz, $FE_{50} = 12,7$ Hz (figura 1).

De la aplicación de pulsos entre 0,8 y 10 ms se obtuvo una $DPE_{\min} = 1$ ms, una $DPE_{50} = 1,92$ ms y $DPE_{\max} = 4$ ms (figura 2).

Los estímulos de duración menor a 5 s nunca alcanzaban la respuesta máxima, independientemente de los valores del resto de los parámetros y con el aumento de la duración por encima de los 5 s se conseguían respuestas iguales a la máxima.

Se observó que los intervalos de 1 min entre estímulos producían fenómenos de tetanización y los de 2 min, originaban taquifilaxia a los 30 min de estimulación. La respuesta más homogénea se conseguía con intervalos de 4 min (figura 3).

Cuando se aplicaban estímulos con frecuencias de 2, 6, 10, 20 y 30 Hz, con 5 s de duración, intervalos de 3 min, pulsos de 4 ms y diferencia de potencial supramaximal no se observaban diferencias estadísticamente significativas entre las curvas de frecuencia separadas por periodos de descanso de 15 min (figura 4).

La energía necesaria para producir una respuesta óptima en la fibra lisa del suelo de la gotera reticular de bóvidos resultó $42\text{-}70 \text{ J} (30\text{s}^{-1} \times 4 \times 10^{-3} \text{ s} \times 5 \text{ s} \times V_{\text{max}})$.

Discusión

El objetivo de la estimulación eléctrica transmural era estimular de forma selectiva la inervación intrínseca de la fibra muscular lisa sin que se produjesen directamente cambios en el potencial de membrana (3).

Los valores elegidos inicialmente se basaron en los resultados obtenidos en tejido liso de distintas zonas de los proventriculos de rumiantes. En los trabajos realizados en fibra lisa de pilar de rumen de oveja se empleaban diferencias de potencial de 80 V, frecuencias de 10 Hz, pulsos de 40 ms y duración del estímulo 10 s (9), modificándose a 16 Hz para la fibra circular de la pared de rumen ovino (1). Los parámetros idóneos para la estimulación eléctrica transmural en preparaciones de rumen, retículo y omaso de bóvidos son: 40-80 Hz, 1 ms y 2-40 s (13).

Se comenzó a trabajar con impulsos continuados de voltaje medio (50 V) y fre-

cuencia inferior a 1 Hz. Se elevó progresivamente el voltaje sin obtener ningún tipo de respuesta, de lo que se dedujo que la capacidad de respuesta del tejido frente a frecuencias muy bajas era escasa o nula. Estos resultados contrastaron con los obtenidos en preparaciones de tejido vascular y de *Taenia coli* de cobaya, que respondían a la EET con estímulos de frecuencia muy baja (7). Las primeras respuestas contráctiles frente a la EET se obtuvieron aplicando pulsos de 1 ms, 3 s de duración, 50 V y 20 Hz.

De los resultados obtenidos, se observó que la frecuencia era el parámetro que influía en mayor medida en la EET de las preparaciones del suelo de la gotera.

Para establecer la duración del intervalo entre impulsos, se hicieron pruebas con valores de 2, 3 y 4 min (figura 3), con 2 min se producía un marcado agotamiento de las fibras y respuestas no homogéneas. El intervalo de 4 min produjo una respuesta que se estabilizaba a los 30 min y se mantenía homogénea, al menos, durante 2-3 h.

Las respuestas obtenidas en la gotera reticular tras EET eran semejantes a las observadas en músculo liso de pilar de rumen de oveja y músculo circular de la misma cavidad (1, 9).

Comparando los parámetros, la gotera reticular resultó ser el tejido que requiere impulsos más cortos y de mayor frecuencia que en las preparaciones de rumen (5 s, frente a 20-40 s en músculo circular de rumen y 8 s en músculo liso de pilar de rumen; 30 Hz frente a los 10-16 Hz de las preparaciones de rumen) (1, 9, 13) exceptuando los valores aplicados en rumen, retículo y omaso (40-80 Hz) (13).

La energía que necesitaba la musculatura lisa de la gotera reticular para contraerse por EET era menor que la necesaria en otros tejidos de proventriculos de rumiantes exceptuando los valores resultantes de los trabajos de TANEIKE y OHGA (13).

Cuando las fibras presentaban motilidad espontánea, la EET con los valores mencionados, no la abolía. Si el estímulo

eléctrico coincidía con una contracción espontánea no se podía saber con certeza a qué se debía el aumento de amplitud. La sumación de efectos ya había sido descrita anteriormente. Además, después de una contracción inducida por EET, en tejido con motilidad espontánea, se producía otra contracción espontánea de características variables en cuanto a amplitud y duración (1, 9).

En preparaciones procedentes de tejido vascular o intestinal de otras especies las descargas puntuales se suelen asociar con contracciones transitorias y las descargas mantenidas con contracciones mantenidas (7). Sin embargo, las preparaciones procedentes del suelo de la gotera reticular requerían descargas mantenidas durante 5 s para conseguir contracciones transitorias, y estímulos con intervalos menores de 1 min para contracciones mantenidas, que conducían a la tetanización de la fibra.

En conclusión, la musculatura lisa del suelo de la gotera reticular respondía de forma homogénea y reproducible a la EET en las condiciones anteriormente citadas, siendo posible establecer 2 modelos de experimentación.

Agradecimientos

Agradecemos al Prof. Dr. E. Ballesteros Moreno, sus consejos y ayuda en la elaboración de este trabajo.

Resumen

Se determinan *in vitro* los parámetros óptimos de estimulación eléctrica transmural (EET), del músculo liso del tercio anterior del suelo de la gotera reticular de bóvidos adultos. La actividad mecánica de las preparaciones se registra isométricamente y los estímulos eléctricos se aplican con electrodos de platino en forma de anillo. Los resultados indican que la

respuesta de este tejido frente a la EET es de naturaleza fásica y sincrónica con el estímulo. Los valores de los parámetros necesarios para producir una respuesta homogénea, cuantificable y reproducible son: voltaje supramáximo, 70-100 V; frecuencia, 30 Hz; duración del pulso, 4 ms; duración del estímulo 5 s; e intervalo entre estímulo, 4 min. Para realizar curvas de frecuencia (2, 6, 10, 20, 30 Hz) el intervalo entre estímulos es de 3 min.

Palabras clave: Gotera reticular, Bóvidos adultos, Estimulación eléctrica transmural.

Bibliografía

1. Arruebo, P.: Canales de calcio en músculo liso de rumen de oveja. Tesis doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. 1986.
2. Beghelli, V., Ceccarelli, A., Debenedetti, A., Lucaroni, A. y Olivieri, O.: *Atti. Soc. Ital. Sci. Vet.*, 28, 377-383. 1975.
3. Brading, A. y Sneddon, T.: *Br. J. Pharmacol.*, 70, 229-240. 1982.
4. Brugère, H., Mikhail, M. y Le Bars, H.: *Bull. Acad. Vet. Fr.*, 60, 63-68. 1987.
5. Encinas, T., San Andrés, M. I., Lucas, J. J. y Ros, J. M.: *Rev. esp. Fisiol.*, 45, 367-372. 1989.
6. Habel, R. E.: Anatomía de los animales domésticos (Sisson, S. y Grossman, J. D., eds. Salvat. Barcelona, 1982. pp. 902-1003.
7. Karaki, H. y Weiss, G. B.: *Life Sci.*, 42, 111-122. 1988.
8. Mikhail, M., Brugere, H. y Le Bars, H.: *Am. J. Vet. Res.*, 49, 1713-1715. 1988.
9. Murillo, P.: Fisiofarmacología del pilar del rumen en ovino. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. 1981.
10. Orskov, E. R. y Benzie, D.: *Brit. J. Nutr.*, 23, 420-425. 1969.
11. Ruckebusch, Y. y Kay, R. N. B.: *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.*, 11, 281-282. 1971.
12. Scholz, H. y Mikhail, M.: *Tierarz. Umsch.*, 42, 280-287. 1987.
13. Taneike, T. y Ohga, A.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 37, 301-311. 1975.

