

INNERVAZIONE INTRINSECA FUNZIONALE DEL MUSCOLO LISCIO DELLO STRATO CIRCOLARE DELL'ESOFAGO DI OPOSSUM *

R. SERIO

McMaster University, Health Science Centre, Department of Neurosciences, Hamilton, Ontario L8N 3Z5, Canada

Riassunto. - In strips di muscolatura liscia circolare prelevate da diverse regioni dell'esofago di opossum, utilizzando la tecnica di registrazione del sucrose-gap, la stimolazione elettrica dei nervi intrinseci determina costantemente la comparsa di una risposta NANC caratterizzata da un IJP seguito da una depolarizzazione off cui spesso sono associati spikes e la contrazione meccanica. Tale risposta non è modificata dalla somministrazione di farmaci colinergici ed adrenergici. Esiste, inoltre, un gradiente in direzione prossimodistale della risposta NANC. L'innervazione intrinseca funzionale del muscolo circolare dell'esofago di opossum è costituita da nervi NANC. La innervazione colinergica non è implicata nelle risposte del muscolo alla stimolazione di campo. Il gradiente prossimo-distale dell'innervazione NANC dimostrato in vitro non può rendere conto della propagazione della contrazione peristaltica osservata in vivo.

Summary (Functional intrinsic innervation of the opossum esophagus circular smooth muscle). - Utilizing the sucrose-gap recording technique, the NANC response to electric intrinsic nerve stimulation of circular smooth muscle strips, obtained from different regions of the opossum esophagus, consists of an IJP followed by an off depolarization often associated with spikes and mechanical contraction. Such a response is not altered by cholinergic and adrenergic drugs. A proximal to distal gradient of the NANC response is described. The functional intrinsic innervation of the opossum esophagus circular smooth muscle is NANC in nature. The cholinergic innervation is not involved in the esophageal response to field stimulation in vitro. The in vitro proximal to distal gradient of the NANC innervation cannot account for the propagation of the peristaltic contraction observed in vivo.

Introduzione

Nella porzione di esofago a muscolo liscio dei mammiferi il gradiente di latenza in direzione distale della off response è considerato l'equivalente fisiologico della peri-

stalsi in vitro [1-3]. Tale gradiente di latenza della off response potrebbe essere dovuto alla presenza di differenze lungo l'esofago esclusivamente nella innervazione intrinseca "non adrenergica, non colinergica" (NANC) [3, 4], oppure a differenze regionali sia nella innervazione colinergica che NANC [5, 6].

Al fine di verificare la validità di tali ipotesi, è stata studiata la risposta elettrica e meccanica alla stimolazione dei nervi intrinseci in strips (strisce) di muscolatura liscia prelevate da porzioni dell'esofago di opossum a distanze diverse dallo sfintere esofageo inferiore (LES) utilizzando le tecniche di registrazione del sucrose-gap e del bagno d'organo.

Materiali e metodi

Gli esperimenti sono stati condotti su opossum adulti (*Didelphis marsupialis*) anestetizzati con Nembutal (50 mg/kg) in cui veniva prelevata la porzione dell'esofago a muscolo liscio. Le precise modalità delle metodiche utilizzate sono già state descritte [7].

Risultati

Nell'opossum, la stimolazione elettrica diretta di strips di muscolatura circolare liscia esofagea determinava costantemente, in ogni strip, con una latenza di 400 ms, la comparsa di una risposta elettrica, antagonizzata dalla tetrodotossina (TTX) (10^{-6} M) e non modificata dal pretrattamento con guanetidina (10^{-6} M), caratterizzata da una iperpolarizzazione della membrana cellulare (IJP, potenziale di giunzione inibitore), seguita da una depolarizzazione off che frequentemente dava luogo a potenziali di azione ed a cui era associata la contrazione muscolare (Fig. 1).

L'analisi delle caratteristiche degli IJPs e della successiva fase di depolarizzazione off ha messo in evidenza l'esistenza di differenze regionali, risultate statisticamente significative. Infatti, si è osservato un incremento lineare in direzione aborale della ampiezza, del tempo inter-

* Lavoro presentato al 1° Convegno Nazionale "Giovani Cultori delle Neuroscienze" (Roma, Consiglio Nazionale delle Ricerche, 11-12 dicembre 1987) su invito del Comitato scientifico del convegno.

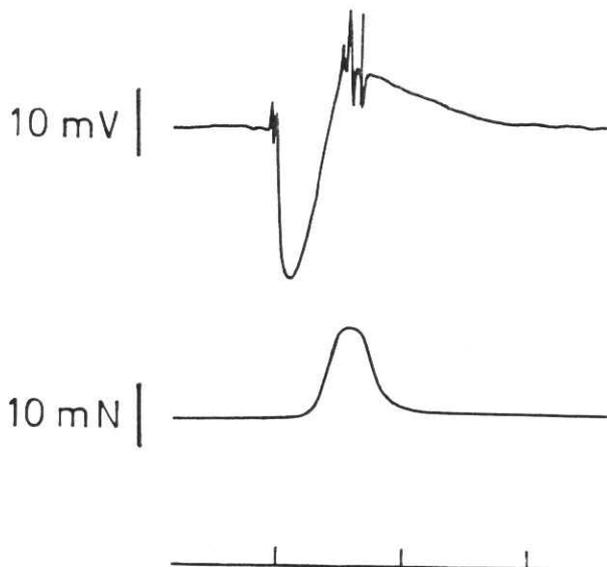


Fig. 1. - Registrazione, utilizzando la tecnica del *sucrose-gap*, della risposta elettrica e meccanica evocata dalla stimolazione di campo (0,3 s, 30 Hz, 0,3 ms, voltaggio sopramassimale) in una *strip* di muscolo liscio dell'esofago di opossum prelevata dalla regione 4-5 cm al di sopra dello sfintere esofageo inferiore. Marcatepo: 10 s.

corso tra l'applicazione dello stimolo ed il picco massimo di iperpolarizzazione e della durata degli IJPs. Per quanto riguarda la successiva fase di depolarizzazione *off*, ad eccezione della sua durata che manteneva valori costanti per tutta la lunghezza del viscere, si è osservato un incremento lineare in direzione aborale dell'ampiezza e del tempo intercorso tra l'inizio dello stimolo e la metà della massima ampiezza della fase di ripolarizzazione considerato come indice della latenza della depolarizzazione *off* (Fig. 2). Ancora, l'attività a *spikes* inscritta sulla fase di depolarizzazione e l'attività contrattile *off* sono state registrate più frequentemente da *strips* provenienti dalle porzioni distali e ciò è in relazione alla maggiore ampiezza della depolarizzazione *off* in tali porzioni dell'esofago.

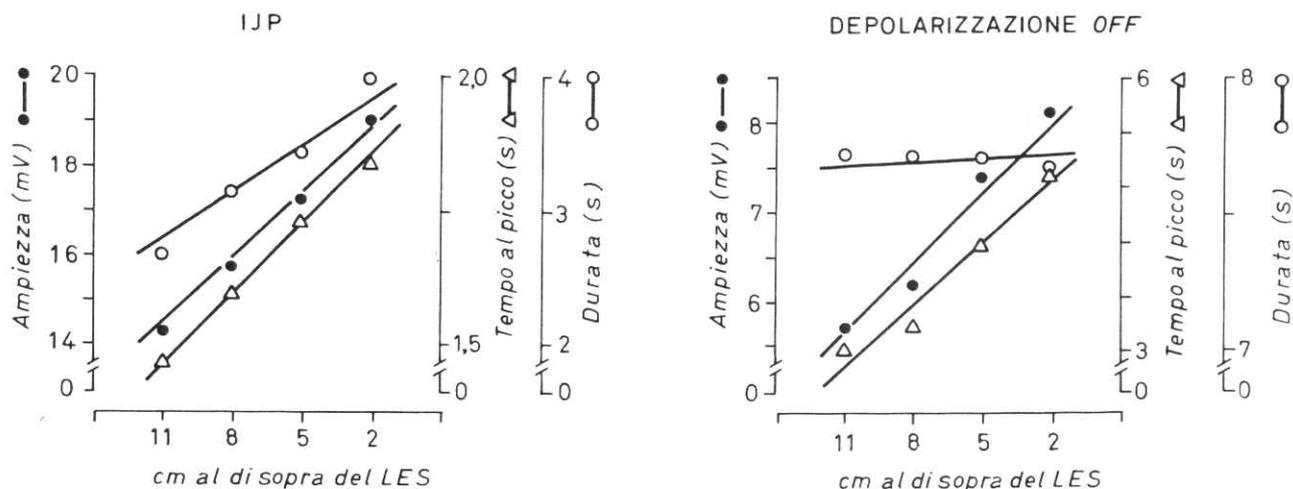


Fig. 2. - Rappresentazione grafica dei valori medi delle caratteristiche elettrofisiologiche prese in considerazione per gli IJPs e per la successiva fase di depolarizzazione *off*, in funzione della distanza dei siti di registrazione dallo sfintere esofageo inferiore (LES). I dati presentati sono il risultato di osservazioni effettuate in 6 animali differenti. Le rette di regressione sono state calcolate col metodo dei minimi quadrati.

La somministrazione di acetilcolina (ACh) (10^{-6} M) determinava in ogni *strip* una transitoria depolarizzazione della membrana cellulare accompagnata da un incremento della tensione.

La somministrazione di atropina (10^{-7} M, 10^{-6} M) e di metilscopolamina (10^{-6} M), a dosi che bloccavano la risposta del muscolo alla ACh, non modificava le caratteristiche degli IJPs e della successiva fase di depolarizzazione *off* in nessuna *strip* e, pertanto, venivano mantenute le differenze regionali riscontrate nel controllo.

La somministrazione di fisostigmina (10^{-6} M), ad una dose che potenziava la risposta del muscolo alla applicazione di ACh, non modificava le caratteristiche degli IJPs e causava solo un modesto aumento della ampiezza della depolarizzazione *off* (non statisticamente significativo), la comparsa o l'aumento della attività a *spikes* ed un incremento della ampiezza dell'onda di contrazione. Le differenze regionali nelle caratteristiche degli IJPs e della depolarizzazione *off* riscontrate nel controllo venivano, comunque, mantenute.

Da sottolineare che, comunque, non è mai stata messa in evidenza una depolarizzazione *on* successiva alla somministrazione di fisostigmina.

Anche utilizzando la tecnica del bagno d'organo, la stimolazione elettrica di campo causava in ogni *strip* un aumento di tensione solo dopo la fine del periodo di stimolazione, *off response*. Occasionalmente è stata registrata una contrazione *on* fasica di modesta ampiezza, che non era modificata dalla atropina ed era potenziata dalla TTX. Tale contrazione era, pertanto, il risultato della stimolazione diretta della parete muscolare ed il suo potenziamento da parte della TTX era presumibilmente dovuto al blocco contemporaneo di effetti neurali inibitori.

Discussione

Nell'opossum l'innervazione intrinseca funzionale della porzione di esofago a muscolo liscio è costituita fondamentalmente dalla innervazione inibitrice NANC.

Una minima innervazione colinergica diretta è presente per tutta la lunghezza dell'esofago anche se non sembra svolgere alcun ruolo nelle risposte dell'esofago alla stimolazione di campo. Non vi sono prove per l'esistenza di un gradiente prossimo-distale dell'innervazione colinergica intrinseca che potrebbe spiegare l'incremento in direzione distale della latenza della contrazione peristaltica. Nell'esofago a muscolo liscio di opossum esiste comunque una polarizzazione funzionale dell'influenza dei neuroni inibitori NANC, che potrebbe riflettere un gradiente in direzione prossimo-distale della densità della innervazione NANC, così come proposto da alcuni autori [5, 6]. Comunque, la nostra osservazione che non vi sono variazioni nella latenza di comparsa degli IJPs sembra escludere questa possibilità. Altri fattori, quali differenze nella quantità di mediatore rilasciato o nel pro-

cesso di degradazione o *reuptake*, così come nella densità di recettori muscolari presenti lungo l'esofago, potrebbero essere implicati.

Da ultimo, il gradiente prossimo-distale dell'influenza dell'innervazione NANC, osservato *in vitro*, da solo non può rendere conto della velocità di propagazione della contrazione peristaltica osservata *in vivo*. Infatti nei nostri esperimenti la velocità di propagazione calcolabile in base alle differenze di latenza della depolarizzazione *off* nelle diverse regioni del viscere risulta maggiore di quella calcolata per le contrazioni evocate *in vivo*, dalla deglutizione o dalla stimolazione vagale efferente.

Ricevuto il 25 febbraio 1988.

Accettato il 7 aprile 1988.

BIBLIOGRAFIA

1. WEISBRODT, N.W. & CHRISTENSEN, J. 1972. Gradients of contractions in the opossum esophagus. *Gastroenterology* **62**: 1159-1162.
2. DANIEL, E.E., HELMY-ELKHOLY, A., JAGER, L.P. & KANNAN, M.S. 1983. Neither a purine nor VIP is the mediator of inhibitory nerve in opossum esophageal smooth muscle. *J. Physiol. (London)* **336**: 243-260.
3. JURY, J., JAGER, L.P. & DANIEL, E.E. 1985. Unusual potassium channel mediate non-adrenergic non-cholinergic nerve-mediated inhibition in opossum esophagus. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **63**: 107-112.
4. CHRISTENSEN, J. & ISKANDARANI, M. 1981. Neuromuscular function in esophageal smooth muscle of opossum as differently affected by veratrum alkaloids. *Gastroenterology* **81**: 866-871.
5. CRIST, J., GIDDA, J.S. & GOYAL, R.K. 1984. Intramural mechanism of esophageal peristalsis: role of cholinergic and non-cholinergic nerves. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **81**: 3595-3599.
6. GILBERT, R.J. & DODDS, W.J. 1986. Effect of selective muscarinic antagonists on peristaltic contractions in opossum smooth muscle. *Am. J. Physiol.* **250**: G50-G59.
7. SERIO, R. & DANIEL, E.E. 1988. Electrophysiological analysis of response to the intrinsic nerves in circular muscle of opossum esophageal muscle. *Am. J. Physiol.* **254**: G107-G116.