



11210
6
1985

Universidad Nacional Autónoma de México



Facultad de Medicina

División de Estudios de Postgrado

Dirección General de Servicios Médicos del
Departamento del Distrito Federal

Dirección de Enseñanza e Investigación

Curso Universitario de Especialización en Cirugía Pediátrica

**RESPUESTA DEL ESFINTER INTERNO DEL ANO
Y DEL COLON DISTAL A LOS NEUROTRANSMISORES**

Trabajo de Investigación Experimental

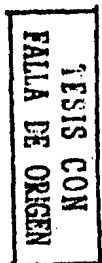
Q u e p r e s e n t a :

DR. JOSE GUSTAVO HERRERA ABARCA

para obtener el grado de:

ESPECIALISTA EN CIRUGIA PEDIATRICA

Director de Tesis: **DR. JORGE EDUARDO HERRERA A.**



1985





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

- I.- ANTECEDENTES
- II.- JUSTIFICACION Y OBJETIVO
- III.- MATERIAL Y METODO
- IV.- RESULTADOS
- V.- CONCLUSIONES
- VI.- BIBLIOGRAFIA

ANTECEDENTES

La enfermedad de Hirschsprung o megacolon congénito es un padecimiento cuyo sustrato anatómico reside en la ausencia de los ganglios de Meissner y de Auerbach del rectosigmoide. Esta inervación anormal principia a nivel del esfínter interno del ano y lo incluye extendiéndose en sentido proximal en tramos de diversa magnitud (1). La presentación más frecuente es aquella que incluye el recto y la zona inferior del sigmoide.

un número pequeño de pacientes tiene sólo un mínimo segmento aganglionar, limitado al recto por debajo del suelo pélvico; en el 15 al 25% de los casos la agangliososis rebasa el sigmoide en sentido proximal y en algunos casos incluye la totalidad del colon y la parte distal del íleon.

Cuando no se encuentran ganglios en la zona afecta se observan grandes troncos nerviosos entre las fibras circulares y longitudinales del colon, especialmente en la zona más distal (2).

Estas fibras nerviosas han sido identificadas como adrenérgicas y colinérgicas y por microscopía electrónica se han identificado como funcionales.

El recto distal aganglionar contiene más nervios parasimpáticos que el recto normal al mismo nivel, pero en porciones ascendentes estos nervios disminuyen en número.

Los nervios adrenérgicos o simpáticos normalmente están en íntima relación con los ganglios, esta disposición no se da en el intestino aganglionar.

Existen también pruebas de que el sistema purinérgico inhibitorio falta en el segmento aganglionar (3,4).

Se ha demostrado recientemente en tejidos de biopsia que existe un aumento de la actividad de la acetilcolinesterasa por medio de pruebas de tinción (5).

Estas alteraciones en la inervación modifica la motilidad coordinada del colon y el acto de la defecación; y los posibles mecanismos serían:

- 1) pérdida del peristaltismo coordinado de propulsión por la falta de células ganglionares.
- 2) pérdida de la relajación eficaz por la ausencia de inervación simpática normal.
- 3) pérdida de la relajación del segmento aganglionar por la ausencia de fibras purinérgicas.
- 4) aumento del tono motor incoordinado del segmento distal por el aumento de los nervios parasimpáticos.
- 5) pérdida de la relajación refleja del esfínter interno - cuando se distiende el recto.

El esfínter interno del ano se forma por un engrosamiento de la fibra muscular circular continuación de la capa homóloga del colon terminal y está incluido en el músculo es-triado del esfínter externo del ano y del músculo puborrec-talis; este esfínter tiene la característica de mantener - en estado de "reposo" cierto tono, y el mecanismo de relajación lo constituye el acto reflejo integrado por dilatación rectal y posterior relajación del esfínter interno; - quedando entonces la continencia supeditada a los músculos del esfínter externo y el elevador del ano, los cuales son músculos voluntarios (6).

En la enfermedad de Hirschsprung no se produce la relajación del esfínter interno al distenderse el recto; incluso en forma paradójica en algunos casos este aumenta de tono. Este fenómeno constituye uno de los elementos diagnósticos de la enfermedad, y que no se presenta en los casos de megacolon adquirido y en estreñimiento habitual.

De acuerdo a lo anterior la enfermedad de Hirschsprung se puede manifestar en diversas formas de acuerdo al grado de obstrucción.

En el neonato no hay expulsión de meconio o esta se retarda más de 24 o 48 horas; puede haber distensión abdominal, vómito de contenido variable; y a la introducción de un dedo en el recto se produce una evacuación "explosiva" de meconio, esto puede evolucionar al estreñimiento intermitente o a la obstrucción intestinal y perforación.

En el lactante o en el niño mayor se presenta la forma clásica con abdomen globoso, estreñimiento crónico y detención o retardo en el crecimiento y desarrollo (7,8).

El diagnóstico se hace en base a historia clínica cuidadosa y se documenta con estudios radiográficos entre los que se incluyen el colon por enema, la manometría y la biopsia rectal.

El tratamiento quirúrgico consiste en sustituir el segmento aganglionar por intestino sano; siendo las complicaciones - de los diferentes procedimientos el estreñimiento o grados variables de incontinencia fecal (11).

Otro grupo de padecimientos en los que existe alteración en la función del esfínter interno del ano lo constituyen las malformaciones anorrectales altas; en ellas por definición no existe esfínter interno o este es de menor tamaño que en individuos normales (9).

Estos padecimientos tienen en común alteraciones de la función del esfínter interno, dado en uno por anomalías en su inervación y en el otro por ausencia o disminución en el tamaño del mismo; esto determina en algunos casos grados variables de estreñimiento o de incontinencia fecal después de la corrección quirúrgica.

La continencia fecal está determinada también por otros factores como son la integridad de las vías nerviosas procedentes de la médula espinal, de la actividad del esfínter externo del ano y de la hamaca puborrectalis; además son factores importantes la madurez neurológica que habitualmente se alcanza a los 2 años de edad, así como la educación y el establecimiento del acto reflejo de la defecación (10 11).

JUSTIFICACION

Demostrar la actividad "in vitro" del esfínter interno del ano y del colon distal con mediadores químicos: acetilcolina, norepinefrina y adenosina cuya actividad es ya conocida sobre los diferentes grupos nerviosos que regulan la actividad peristáltica del colon y del esfínter interno, debién dose de realizar en animales de experimentación ya que no es posible por la naturaleza del estudio realizarlo en seres humanos.

OBJETIVO

- 1.- Conocer y comparar el comportamiento fisiológico del segmento distal del colon y del esfínter interno del cobayo a diversos neurotransmisores y buscar la curva de dosis respuesta a los mismos.
- 2.- Buscar indicadores de utilidad terapéutica de la respuesta a neurotransmisores para abordar algunos de los problemas clínicos de disfunción del esfínter interno, como se ha señalado en la enfermedad de Hirschprung, así como en los problemas residuales después de su resolución quirúrgica.

MATERIAL Y METODO

11 cobayos machos con peso entre 600 y 700 gr.

Adenosina a concentraciones de 10^{-8} a 10^{-5} M

Clorhidrato de Norepinefrina a concentraciones de 10^{-8}
a 10^{-5} M

Acetilcolina a concentraciones de 10^{-6} a 10^{-4} Molar

Solución de Krebs a 37 grados centígrados

Polígrafo Grass

Transductor de tensión

Balanza de precisión

Oxígeno

Catéteres

Jeringas de 1 a 10 cc

Equipo de cirugía menor

Atropina

10 cajas de Petri

Estimulador eléctrico incorporado al transductor

Seda 4 - 0

Hojas de bisturí

Pipetas de 10 y 50 cc

1 parrilla eléctrica

Agua bidestilada a 37 grados centígrados

1 centrífuga

METODO

Se sacrifica el cobayo con un golpe en la región cervical e inmediatamente se disecciona el esfínter interno del ano que se separa fácilmente del músculo estriado del esfínter ex terno; y se extrae un segmento circular de aproximadamente 0.3 a 0.4 cm de espesor y se coloca en solución de Krebs

a temperatura de 37 grados centígrados; posteriormente se abre la cavidad abdominal se exterioriza el colon distal y se secciona un segmento circular de similares dimensiones al anterior y se coloca en Krebs; luego ambos segmentos son ligados por sus extremos de tal forma que se incluya el espesor de las capas que constituyen sus paredes y se montan en las cubetas del transductor de tensión.

Las cubetas del transductor tienen un sistema de reciclaje de agua a través de su doble pared que le permite conservar una temperatura constante de 37 grados centígrados y su interior contiene dos electrodos conectados al estimulador eléctrico y se llenan (9 cc) de solución de Krebs también a 37 grados centígrados.

Se dejan los segmentos en estudio a tensión de 1 gramo - por centímetro y se revisan los registros eléctricos para identificar los trazos normales o basales; una vez que se obtienen los trazos basales se agrega una dosis del fármaco en estudio a cada cubeta y cuando se vuelve a normalizar el trazo en el polígrafo se lava dos ocasiones con solución de Krebs permitiendo un reposo de 15 minutos; posteriormente se le agrega una dosis de concentración mayor a la anterior realizando el mismo procedimiento de lavado en cada aplicación.

En todos los casos se realizaron estudios simultáneos del esfínter interno del ano y del colon distal.

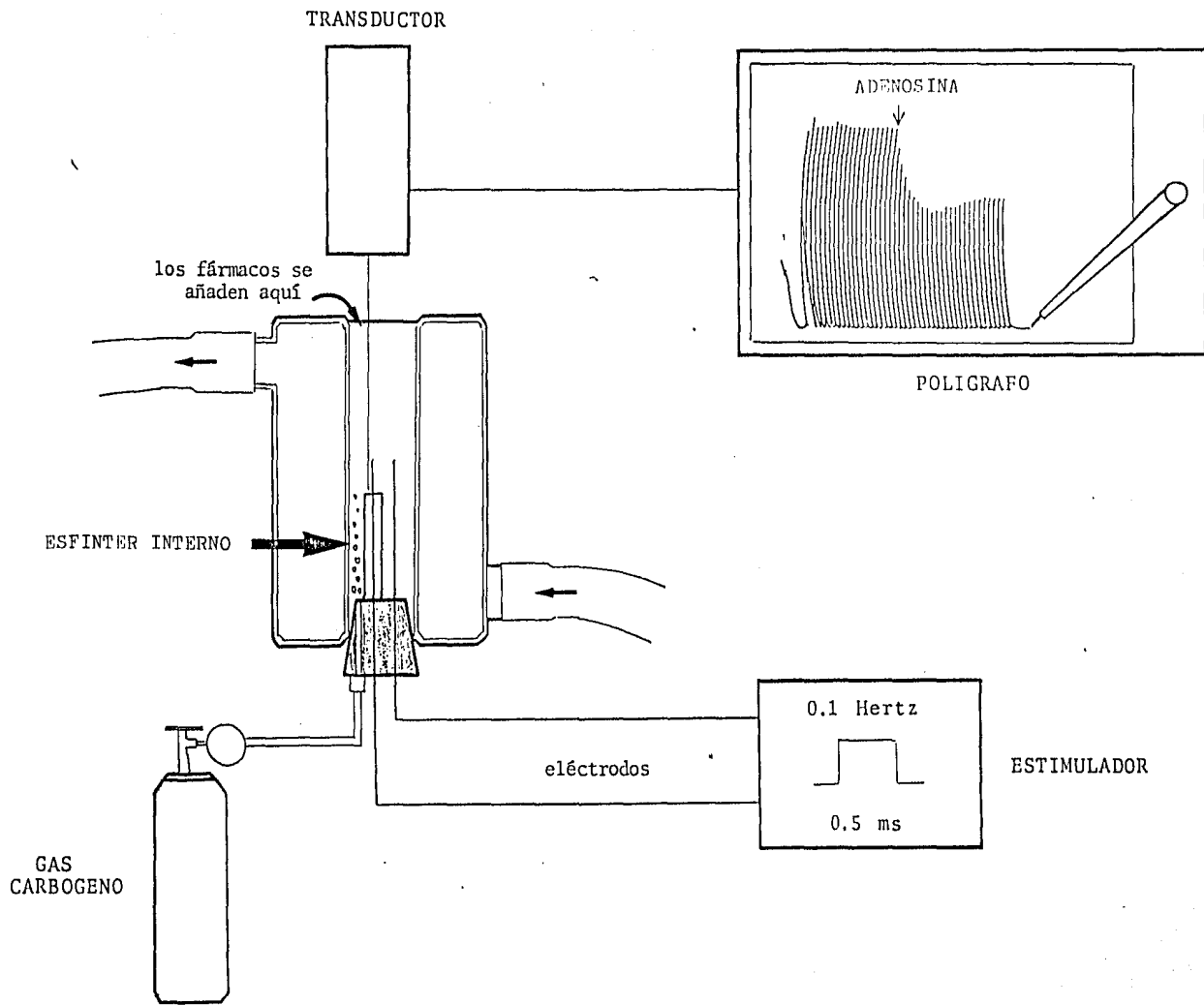
Previamente se realizó un estudio piloto con 10 cobayos - que no se incluyeron en el trabajo, para estandarizar la disección, el montaje en el transductor de tensión y el manejo del polígrafo; los resultados preliminares fueron semejantes a los que se obtuvieron en el estudio definitivo. En el estudio inicial se incluyeron 4 hembras, y en el estudio preliminar se utilizó un cobayo morfinizado.

El montaje de los segmentos en el sistema queda ilustrado como se muestra en la Fig. 1.

La sensibilidad para todos los segmentos de colon distal fué de 0.5 mv/cm y la velocidad del trazado de 15 mm/min.

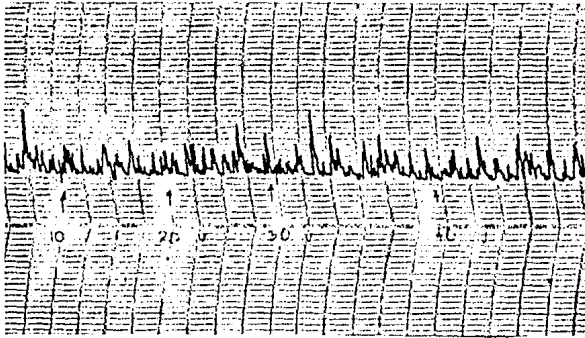
La sensibilidad en el esfínter interno fué de 0.2 mv/cm y el trazado a la misma velocidad.

La flecha situada en la parte inferior del trazado indica el momento en que se aplica el neurotransmisor.



RESULTADOS

- A) Sometiendo el esfínter interno (EI) a estímulos eléctricos de 10 a 40 v no se modificó ni el tono ni la actividad espontánea. Fig 2



- B) Diferencias entre los registros del colon distal (CD) y del esfínter interno. Fig 3 a y b.

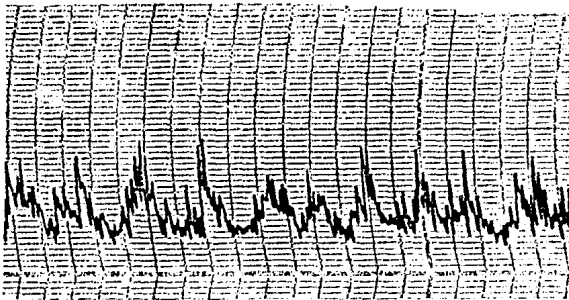


Fig. 3 a CD Sensibilidad 0.5 mv/cm

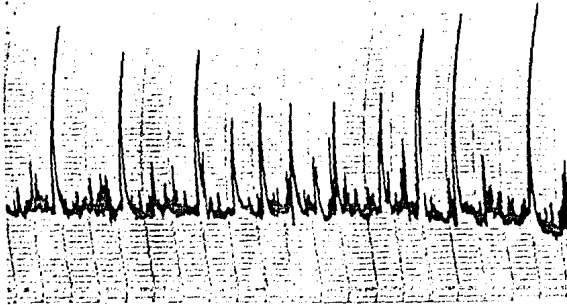


Fig. 3 b

C) CLORHIDRATO DE NORFINEFRINA (NEPI)

COLON DISTAL (CD)

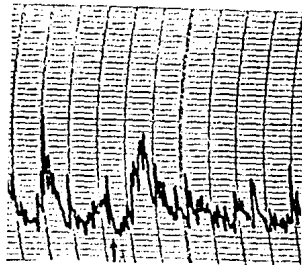
Sensibilidad: 0.5 mv/cm Vel. 15mm/min

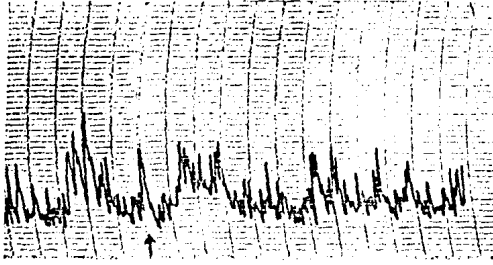
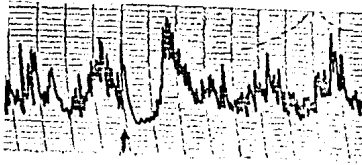
CONCENTRACION NEPI	mv/cm	mv/cm	X
$10^{-6}M$	-5mm	-4mm	-4.5 mm
$10^{-7}M$	-6mm	-5mm	-5.5 mm
$10^{-6}M$	-6mm	-5mm	-5.5 mm

1cm = 1000 mg

Relajación de corta duración.

No hay relación dosis respuesta. Fig.4 a,b,yc.

Fig 4 a 10^{-8}

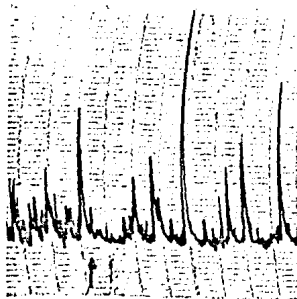
Fig 4 b 10^{-7} Fig 4 c 10^{-6}

NOREPINEFRINA

ESFINTER INTERNO (EI)

Sensibilidad 0.2 mv/cm 1 cm = 200mg

Modificaciones mínimas del tono basal en $10^{-6}M$ hasta de 50mg
 Mínima disminución de las contracciones espontáneas en períodos de 30 a 60 segundos. Fig 5 a, b y c.

Fig 5 a 10^{-8}

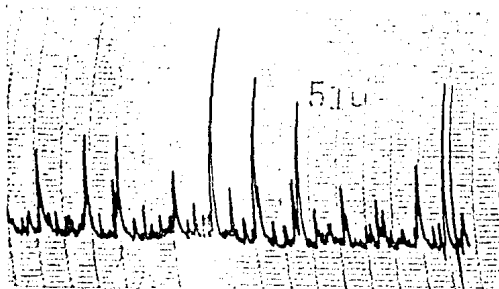


Fig 5 b 10^{-7}

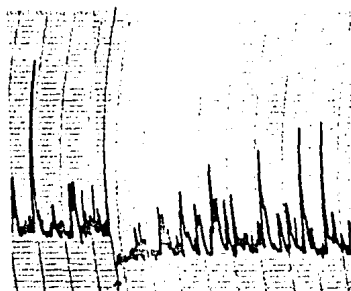


Fig 5 c 10^{-6}

D) ADENOSINA
COLON DISTAL

CONCENTRACION	RELAJACION EN mm DE TENSION \bar{X}					
10^{-8} M	-1.2	-5.0	-4.0	-4.0	-0.0	-2.1mm
10^{-7} M	-1.0	-4.0	-6.0	-4.5	-1.0	-3.0mm
10^{-6} M	-2.0	-4.0	-5.0	-4.5	-0.6	-3.0mm
10^{-5} M	----	-5.0	-7.0	-4.5	----	-5.1mm

Relajación de pequeña magnitud entre 10^{-8} a 10^{-5} M en forma dosis dependiente, con máximo hasta de 0.7 g de relajación fugaz de aproximadamente 30 segundos para-----

recobrar el estado basal. FIG 6 a,b, y c.

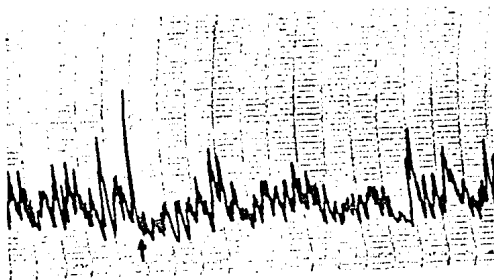


FIG 6 a CD ADENOSINA 10^{-8}

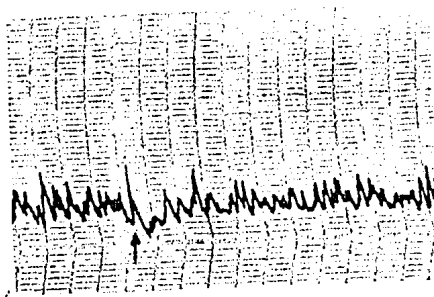


FIG 6 Adenosina 10^{-7}

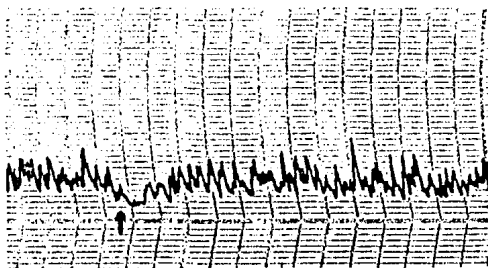


FIG 6 c Adenosina 10^{-6}

ADENOSINA

ESFINTER INTERNO

Sensibilidad 0.2 mv/cm Velocidad 15 mm/min.

Las concentraciones de 10^{-8} a 10^{-6} no modifica el tono basal y sólo retrasa por un tiempo muy corto de 10 a 20^u los disparos espontáneos (6 segmentos) Fig 7 a, b y c.

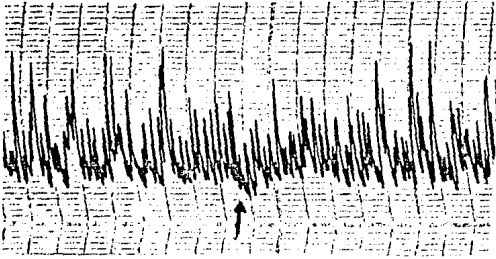


Fig 7 a

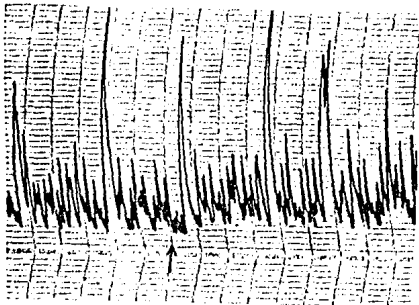


Fig 7 b

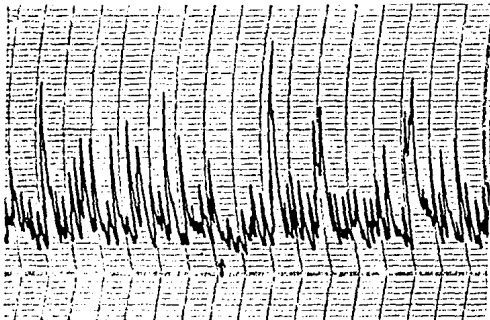


Fig 7 c

E) ACETILCOLINA

ESFINTER INTERNO. Un segmento.

CONCENTRACION	TENSION EN mm
10^{-6}	0 mm
10^{-5}	+5 mm
10^{-4}	+8 mm
10^{-3}	+13 mm

Aumenta el tono basal ,aumenta la frecuencia de las contracciones espontáneas;el efecto es rápido;en 10 segundos se obtiene la respuesta máxima y en dos minutos practicamente ha desaparecido. Fig 8 a,b,c,y d.



Fig 8 a



Fig 8 b

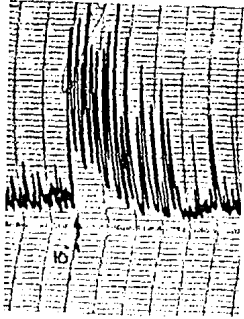


Fig 8 c

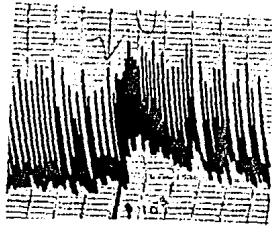


Fig 18 d

ACETILCOLINA

COLON DISTAL. Un segmento

CONCENTRACION	TENSION EN mm	PICO MAXIMO
10^{-6}	+ 4 mm	9
10^{-5}	+ 6 mm	14
10^{-4}	+10 mm	29
10^{-3}	+20 mm	40

Aumenta la amplitud de las concentraciones espontáneas.

Recuperación en dos minutos del tono basal.

Fig. 9 a,b,c,y d.

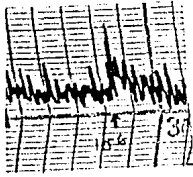


Fig 9 a

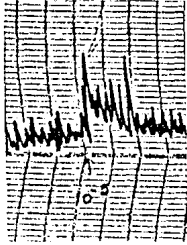


Fig 9 b



Fig 9 c

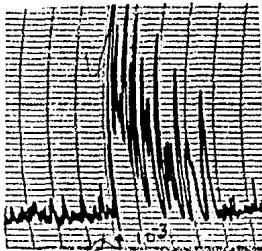


Fig 9 d

CONCLUSIONES

- 1) El proceso espontáneo de tono y actividad espontánea es más evidente en el colon distal que en el esfínter interno, ya que se necesita que la sensibilidad para el registro sea mayor en la preparación del esfínter interno; - además ambas preparaciones tienen diferente comportamiento compatible con las funciones de cada segmento.
- 2) El músculo liso circular del esfínter interno no responde a estímulos eléctricos que en otras preparaciones - músculo liso longitudinal del íleon) induce contracciones hasta 3 a 4 gramos de desplazamiento.
- 3) La respuesta a acetilcolina como neurotransmisor excitatorio ocurre en CD con en el EI; sin embargo hay variantes importantes, la primera es que se requieren contracciones mucho más altas que en otras preparaciones; segundo: la respuesta aunque similar en ambas preparaciones muestra un componente que las particulariza: acetilcolina aumenta la frecuencia de las contracciones espontáneas en el esfínter interno, en cambio, en el colon distal aumenta la amplitud de estas.
- 4) Norepinefrina y adenosina son neurotransmisores con acción relajante en el colon distal mientras que en el esfínter interno sólo retrasan momentáneamente los disparos espontáneos de mayor desplazamiento y no afectan el tono basal.
- 5) Es posible que la actividad purinérgica inhibitoria en el esfínter interno sea mediada por otros neurotransmisores como el AMP, el ATP o la sustancia "p"; por lo que es conveniente estudiar estas sustancias en preparaciones similares con el fin de encontrar un neurotransmisor que relaje el esfínter interno y que tenga aplicación en clínica como la enfermedad de Hirschsprung en donde existe una contracción sostenida del EI y del todo el segmento colónico aganglionar.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Una observación adicional acerca del comportamiento del esfínter interno es que su actividad no se modifica con la adición de naloxona en cobayos morfinizados; ni la atropina ejerce efecto alguno en su actividad espontánea.

Otra línea de investigación posible sería la búsqueda de sinergismo inhibitorio de neurotransmisores de actividad simpática y purinérgica.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Scott J. Boley et al. enfermedad de Hirschsprung en el neonato. Clínica de Neonatología p. 45-60 ed. Interamericana Vol. 4, 1982.
- 2) Baumgarten, H. G. Holstein, A. E., and Stelsner, F. Nervous elements in the human colon of Hirschsprung's disease. Virchows Arch. Abt. A. Pathol., 358:113, 1973
- 3) Burnstock, G.: Purinergic nerves. Pharmacol. Rev., 29:509, 1972
- 4) Howard, E. R.: Hirschsprung's disease: A review of the morphology and physiology. Postgrad. Med. J., 48:471, 1972
- 5) Meier-Ruge, W., Lutterbeck, R.M. Herzog, B. et al.: Acetylcholinesterase activity in the suction biopsies of the rectum in the diagnosis of Hirschsprung's disease. J. Pediat. Surg., 7:11, 1972
- 6) Schnauffer, L, Talbert, J. C. Haller, J.A., et al. Differential sphincteric studies in the diagnosis of anorectal disorders of childhood. J. Pediat. Surg., 2: 437, 1967
- 7) Marvin M. Schuster. Motor action of rectum and anal sphincters in continence and defecation. Handbook of physiology section 6 Vol. IV motility p. 2121 2146 Am. Phys. Soc. 1968
- 8) Martin L. W. Enfermedad de Hirschsprung. Cirugía Pediátrica. T.M. Holder p. 430-442. ed. Interamericana 1984.
- 9) William E. Kieseweter. Ano imperforado. Cirugía Pediátrica. T.M. Holder. ed. Interamericana 1984.
- 10) Stephens Douglas F. Continencia anorrectal y estreñimiento idiopático. Cirugía Pediátrica T.M. Holder ed. Interamericana 1984.
- 11) Soave, F.: Hirschsprung's disease: A new surgical technique. Arch. Dis. Child., 39 116, 1964.