



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

Alteraciones del plexo de Cajal en
niños con inmadurez neuronal
intestinal

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN:

PEDIATRÍA

P R E S E N T A:

Dr. Gerardo Gutiérrez Navar

TUTOR:

Dr. Roberto Dávila Pérez



CIUDAD DE MÉXICO

FEBRERO 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

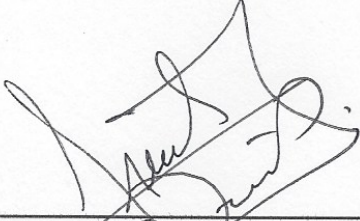
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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.

HOJA DE FIRMAS

Dr. Sarbelio Moreno Espinosa
Director de Enseñanza y Desarrollo Académico

TUTORES:



Dr. Roberto Dávila Pérez
Hospital Infantil de Mexico Federico Gomez



Dr. Pedro Francisco Valencia Mayoral
Hospital Infantil de Mexico Federico Gomez

Dedicatoria

Dedico esta tesis a mis padres Gerardo Gutiérrez y Noelia Navar, mi hermana Noelia Veronica Gutiérrez por su apoyo y amor incondicional, ya que gracias a ellos soy quien soy hoy en día, es a ellos a quien les debo todo.

A mi novia Telma, por la paciencia, la comprensión, por todos los momentos maravillosos que vivimos y llenaron de alegría mi vida y los momentos difíciles que me fortalecieron como persona. Gracias por tu amor.

A mi familia, quienes siempre han estado cerca, apoyándome y aconsejándome oportunamente, a Rosel quien me acompañaste a lo largo de mi vida y partiste antes de tiempo.

A mis maestros por el esfuerzo tan grande que hacen por compartiendo sus conocimientos, por su paciencia y apoyo brindándome y conduciendome en el campo profesional.

Al Dr. Roberto Davila y Dr. Pedro Valencia de forma especial por su apoyo, quienes estudiaron y aprobaron mi trabajo.

Al Instituto Nacional de Salud Hospital Infantil de México Federico Gómez quien me dio la bienvenida y me permitió formarme en el instituto.

Para ellos es esta dedicatoria de tesis, pues es a ellos a quienes se las debo por su apoyo incondicional.

Indice

HOJA DE FIRMAS	2
Dedicatoria	3
Indice	4
Antecedentes	5
Marco teórico	5
Embriología	5
Fisiología	6
Etiología	9
Enfermedad de Hirschsprung	10
Displasia neuronal intestinal	11
Acalasia esofágica	11
Gastroparesia	12
Pseudo- obstrucción intestinal crónica	12
Estreñimiento crónico	13
- Planteamiento de problema	14
- Pregunta de investigación	14
- Justificación	14
- Hipótesis	14
- Objetivos	15
- Diseño de estudio	15
- Población y variables a estudiar	16
- Definición operativa de las variables	17
- Limitaciones del estudio	18
Método	18
Plan de análisis estadístico	19
Cronograma de actividades	20
Resultados	21
Discusión	23
Conclusiones	27
Bibliografía	29
Anexos	31

“Alteraciones del plexo de Cajal en niños con inmadurez neuronal intestinal”

Antecedentes

El diagnóstico diferencial de los trastornos del sistema nervioso entérico en el recién nacido puede ser difícil y el diagnóstico erróneo puede llevar a un tratamiento inadecuado y complicaciones asociadas, las células ganglionares en estos pacientes maduran un poco más tarde, generalmente después de un período de 6 a 12 meses, hasta alcanzar el desarrollo y la maduración del niño.

La función gastrointestinal normal del sistema nervioso entérico depende principalmente por el plexo entérico de Cajal.

Las neuropatías entéricas son alteraciones intestinales dentro de las cuales la que se presenta en mayor frecuencia es la enfermedad de Hirschsprung. Hay otras formas menos comunes, como la inmadurez de las células ganglionares (ICG) o la displasia neuronal intestinal (DNI).

La inmadurez neuronal intestinal es una patología en donde la cantidad de células ganglionares es adecuada o ligeramente mayor, pero las células y sus núcleos son ligeramente más pequeños, se tiñen más claramente, y son de menor tamaño; es una forma rara de disganglionosis.

Marco teórico

Embriología

El sistema nervioso entérico es el sistema nervioso periférico más largo y complejo. Contiene más neuronas que la medula espinal y es capaz de mediar actividad refleja en la ausencia del sistema nervioso central. ^{3,9}

Aproximadamente 80-100 millones de neuronas entéricas pueden ser clasificadas funcionalmente en subdivisiones incluyendo las neuronas intrínsecas primarias, interneuronas, neuronas motoras, secreto-motoras y vasomotoras. Tienen una función crucial en la motilidad gastrointestinal. ^{4,5}

Origen embriológico

Hay dos pasos importantes en el desarrollo del tracto gastrointestinal:

- 1.- Formación del tubo intestinal
- 2.- Formación de órganos, con sus respectivas células especializadas.

La gastrulación es un paso temprano en el desarrollo de todos los organismos multicelulares, las capas embriológicas son determinadas durante este proceso y el desarrollo del tracto gastrointestinal comienza. El sistema gastrointestinal en mamíferos se origina de las tres capas embriológicas, el epitelio linfático del hígado y páncreas es formado por el endodermo, el mesodermo provee elementos mesenquimatozos incluidos músculo liso y células estromales, el ectodermo provee neuronas del sistema nervioso entérico que regulan la motilidad gastrointestinal, este se divide en tres tipos de células: cresta neural, tubo neural y ectodérmicas. ^{11,13}

La cresta neural comprende de la región dorsal del tubo neural, de la cual se originarán los melanocitos, la medula adrenal, dentina de dientes, los brazos parasimpáticos y brazos simpáticos del sistema nervioso periférico y las neuronas del sistema nervioso entérico. ¹²

Fisiología

La complejidad del sistema nervioso entérico maduro se ejemplifica con muchos tipos diferentes de neuronas funcionales que contienen neurotransmisores lo cuales se producen en varias combinaciones. Los tipos de neurotransmisores varían según el momento de su aparición. ^{7,8}

El desarrollo del sistema nervioso entérico humano se caracteriza por la aparición temprana (entre la 9ª y 12ª semana de gestación) de nervios adrenérgicos y colinérgicos.

Ha surgido una fuerte evidencia de que el sistema nervioso entérico no solo está compuesto de nervios adrenérgicos y colinérgicos, sino también nervios autónomos no adrenérgicos, no colinérgicos (NANC), que contienen diferentes péptidos, estos péptidos actúan como neurotransmisores o neuromoduladores, o ambos.

Estos nervios se han denominado nervios peptidérgicos. (El desarrollo de la innervación peptidérgica ocurre mucho más tarde).^{4,12}

En los últimos años, los estudios farmacológicos y fisiológicos han proporcionado evidencia de que el óxido nítrico (NO) es el mediador más importante en la relajación no adrenérgica y no colinérgica del tracto gastrointestinal.¹⁵

A las doce semanas de gestación, las neuronas nitrérgicas aparecen en los ganglios mientéricos, en todos los niveles del intestino, y comienzan la formación del plexo. La innervación nitrérgica en el plexo submucoso se hace evidente después de las 14 semanas. A medida que aumenta la edad gestacional, la innervación nitrérgica se vuelve más compleja y más organizada. Se observa un número creciente de fibras nerviosas nitrérgicas en el músculo circular; Algunas de estas fibras se proyectan desde el plexo mientérico. Por lo tanto, el inicio y el ritmo de desarrollo de la innervación nitrérgica son similares a la innervación adrenérgica y colinérgica y ocurren antes de la innervación peptidérgica.^{4,10}

La serotonina (5-HT) junto con el glucagón, la insulina, el péptido XY, la gastrina y la somatostatina son las primeras sustancias neurohumorales que se expresan aproximadamente a la 8ª semana de gestación. A las 24 semanas de gestación, se pueden identificar la mayoría de las sustancias neurohumorales gastrointestinales conocidas.

Se desarrollan contactos adicionales entre los nervios entéricos y los efectores a las 26 semanas y los primeros signos de motilidad se pueden detectar a las 25 semanas de gestación.^{3,9}

La innervación del tracto gastrointestinal en el útero se acompaña de actividad funcional de complejidad creciente. Con el aumento de la edad gestacional, aumenta el tránsito general y la tasa de propagación. Los estudios posteriores de la motilidad gastrointestinal en bebés prematuros se han realizado utilizando catéteres intraluminales. Los datos de estos estudios revelan que no hay periodicidad regular o ritmicidad a las 25 semanas de gestación.

El desarrollo adicional se produce durante las próximas 15 semanas, por lo que, por término, los patrones maduros motores del tracto gastrointestinal están bien establecidos. ¹²

Las respuestas a la alimentación varían considerablemente entre los recién nacidos prematuros; En general, los estudios de motilidad intestinal pueden predecir la intolerancia alimentaria. ^{10,11}

Las células nerviosas entéricas continúan diferenciando durante los primeros años de vida, lo que significa que el sistema nervioso del bebé es plástico y se está desarrollando. Existe evidencia clara de que el desarrollo del SNE continúa después del nacimiento. La distribución normal de las células ganglionares está presente a las primeras 24 semanas de gestación en humanos. Estos ganglios continúan madurando hasta la infancia. Estudios previos en muestras de intestino humano han revelado que la densidad de las células ganglionares para NADPH-diaforasa disminuye en el plexo submucoso del colon distal humano y el plexo mientérico del intestino delgado, el colon y el recto humanos. ^{4,6}

Un número importante de células musculares lisas exhiben actividad eléctrica espontánea así como actividad mecánica. Inicialmente se pensaba que esto correspondía a propiedades intrínsecas de las células, pero la interpretación actual es que existen grupos especializados de células entrelazadas con las células del músculo liso, conocidas como células intersticiales de Cajal (CIC).

En el tracto digestivo esta red está localizada cerca del plexo mientérico y genera actividad de marcapasos, donde los potenciales de acción se conducen pasivamente hacia las capas musculares vecinas, generando cambios rítmicos del potencial de membrana.

Es sabido que la actividad mecánica de las células musculares lisas puede ser modificada por los nervios autonómicos que llegan a ellas.

Muchos segmentos del tubo digestivo, al ser estudiados en tiras de tejido aisladas, exhiben actividad contráctil rítmica, aunque no reciban estímulos eléctricos u hormonales.

Cuando se registran simultáneamente los potenciales de acción con la contracción mecánica, cada contracción es gatillada por una onda de despolarización. Por su baja frecuencia y larga duración, estas ondas se han denominado ondas lentas.

La idea original era que las ondas lentas eran generadas por las células musculares lisas, pero su estudio ha demostrado que cultivos de células aisladas son incapaces de generar actividad eléctrica espontánea. En cambio, cultivos de CIC sí lo hacen.

Etiología

La función gastrointestinal normal depende en el sistema nervioso entérico, una red compleja de neuronas y glía dentro del intestino que regula la parte motora, sensorial, secretora y de absorción, así como múltiples aspectos de la homeostasis gastrointestinal.^{1,3}

En los niños la causa más importante de obstrucción intestinal funcional es la disganglioneosis, y entre ellos la enfermedad de Hirschsprung. Hay otras formas menos comunes, como la inmadurez de las células ganglionares (ICG) o la displasia neuronal intestinal (DNI). El diagnóstico diferencial de los trastornos del recién nacido puede ser difícil y el diagnóstico erróneo puede llevar a un tratamiento inadecuado y otras complicaciones.¹⁶

De acuerdo con los estudios histopatológicos, se puede reconocer la inmadurez de las células ganglionares, en donde el número de células ganglionares es correcto o ligeramente mayor, pero las células y sus núcleos son ligeramente más pequeños y se tiñen más claramente.

Las células ganglionares en estos bebés maduran un poco más tarde, generalmente después de un período de 6 a 12 meses, hasta alcanzar el desarrollo y la maduración del niño.²

Muchas de las patologías del tracto gastrointestinal tienen una causa neuropática y aumentan significativamente la morbilidad debido a las anomalías en la función motora y/o sensitiva gastrointestinal. Algunas condiciones se desarrollan desde el origen, causadas por una formación anormal del sistema nervioso entérico.

Otras son adquiridas posteriormente secundario a infecciones, inflamación autoinmune o degeneración neuronal. ^{1,7}

Patología Entérica	Fenotipo neuronal entérico
Enfermedad de Hirschsprung	Ausencia de ganglios entéricos a lo largo del colon.
Displasia intestinal neuronal tipo B	Hipoganglioneosis de la submucosa colonica en niños mayores de 1 año.
Acalasia esofágica	Perdida de las neuronas entéricas inhibitorias en el plexo mientérico esofágico secundario a autoinmunidad.
Gastroparesia	Hallazgos múltiples incluyendo perdida de las células intestinales de Cajal, hipoganglioneosis, o inflamación neuronal en el estomago.
Pseudo-obstrucción intestinal crónica	Casos de neuropata asociados con la inflamación neuronal, usualmente afectando el plexo mientérico
Estreñimiento crónico	Variable histológica, casos con reporte de disminución de neuronal, ganglios o células intestinales de Cajal,

Enfermedad de Hirschsprung

La enfermedad de Hirschsprung es la enfermedad neurointestinal congénita más común con una incidencia de uno de cada 5000 nacidos vivos. Es causada por el fracaso en la migración de las células derivadas de la cresta neural entérica, que darían lugar al sistema nervioso entérico, para completar su migración cráneo-caudal del tubo digestivo. Dejando el extremo distal agangliónico y por lo tanto desprovisto de motilidad. ^{1,14,16}

Esta enfermedad generalmente se caracteriza en los recién nacidos por no evacuar el meconio en las primeras 48 horas de vida, distensión abdominal, emesis y rechazo al alimento. La aganglioneosis de "segmento clásico" (limitado al sigmoide) se presenta en el 80% de los casos. ^{1,16}

Displasia neuronal intestinal

La displasia neuronal intestinal (DNI) tipo B, que representa más del 95% de los casos de DNI, se presenta como un estreñimiento crónico generalmente durante la infancia, cuadros de suboclusivos de repetición. El diagnóstico se realiza mediante biopsia que muestra hiperganglionosis submucosa en el colon. Los criterios histopatológicos específicos han sido controvertidos, basados en opiniones de expertos incluyendo la presencia de ganglios gigantes en la submucosa (8 células ganglionares por celular) en al menos 20% de los ganglios de la submucosa examinada.^{1,12}

La DNI sigue siendo una entidad controvertida, y algunos sugieren que sus características histológicas son secundarias a una obstrucción crónica en lugar de una causa primaria de estreñimiento. El tratamiento de casos graves que requieren cirugía, como esfinterotomía, colostomía de derivación o colectomía.¹²

Acalasia esofágica

La acalasia esofágica es poco frecuente en niños, con una incidencia de 0.1 por 100,000 y una edad media al diagnóstico de 11 años.¹

La enfermedad se caracteriza por una relajación alterada del esfínter esofágico inferior (EEI) y una motilidad esofágica anormal, que resulta en disfagia y regurgitación, a menudo con malestar torácico retroesternal y pérdida de peso. Su fisiopatología se debe a la pérdida de neuronas inhibitorias en el plexo mientérico esofágico que libera óxido nítrico, que se requiere para la relajación del EEI.

Se cree que la enfermedad es autoinmune, con auto anticuerpos que reaccionan contra las neuronas entéricas y conducen a un desequilibrio de inervación excitatoria (colinérgica) sobre inhibitoria (nitrérgica).^{1,6}

La miotomía de Héller ha sido durante mucho tiempo el estándar de oro. El procedimiento generalmente es laparoscópico y, a menudo, incluye una funduplicatura parcial para minimizar el riesgo de reflujo gastroesofágico.^{1,6,9}

Gastroparesia

La gastroparesia se refiere al retraso del vaciamiento gástrico en ausencia de obstrucción mecánica. Los síntomas incluyen distensión y dolor postprandial, saciedad temprana, náuseas y vómito. Aunque se desconoce la prevalencia entre los niños, en la última década ha aumentado dramáticamente las hospitalizaciones asociadas a la gastroparesia. En los niños, el 70% de la gastroparesia es idiopática, mientras que el 30% restante se debe a medicamentos o a cirugía. Se han propuesto diversas causas fisiopatológicas, que incluyen anomalías de la innervación gástrica extrínseca, pérdida de células intersticiales de Cajal (CIC), hipoganglionosis y degeneración inflamatoria de las neuronas mientéricas. El diagnóstico se sospecha clínicamente y se confirma mediante una gammagrafía de vaciamiento gástrico, que mide el tiempo para vaciar una comida coloidal de azufre con Tc99 del estómago. Una prueba de comida sólida de 4 horas es la prueba óptima y puede ser completada por la mayoría de los niños, excluyendo a los muy pequeños. ^{1,6}

Pseudo- obstrucción intestinal crónica

La pseudoobstrucción intestinal crónica (CIPO) se caracteriza por síntomas recurrentes o continuos de obstrucción intestinal en ausencia de una lesión anatómica. Los síntomas a menudo son inespecíficos, lo que retrasa el diagnóstico y contribuye a la morbilidad. La CIPO representa el 15% de los casos de insuficiencia intestinal crónica en niños. La mayoría de los casos son idiopáticos, algunos de ellos secundarios a una enfermedad sistémica, como mixedema, distrofia muscular de Duchenne, hipotiroidismo, hipoparatiroidismo, enfermedad celíaca, enfermedad de Chagas y trastornos mitocondriales. La fisiopatología de la CIPO primaria puede ser neuropática, mesenquimática o miopática, dependiendo de si la anomalía se encuentra en las neuronas entéricas, las CIC o el músculo liso, respectivamente. La CIPO neuropática a menudo se debe a la pérdida degenerativa de las neuronas entéricas o a una neuropatía inflamatoria dentro de los ganglios entéricos y / o los procesos nerviosos.

Aunque el pronóstico en los niños es mejor para la CIPO neuropática, en lugar de miopática, la enfermedad sigue siendo crónica y con frecuencia debilitante, y a menudo sin una terapia definitiva disponible. ^{1,8}

Estreñimiento crónico

El estreñimiento crónico es un trastorno gastrointestinal funcional común que afecta hasta al 30% de los niños. Existen tres subtipos principales: tránsito normal (estreñimiento funcional), tránsito lento (STC) y defecación obstruida. El STC muestra una neuropatía entérica subyacente en algunos pacientes, incluidas las reducciones en el número y procesos de las células neuronales, la glía entérica y las CIC. Un estudio en niños con estreñimiento crónico mostró que la manometría colónica anormal se asociaba con hallazgos histopatológicos que involucraban neuronas, CIC y músculo liso. La dismotilidad colónica puede deberse a un desequilibrio de neurotransmisores, que puede ser un exceso de óxido nítrico en el plexo mientérico, que podría inhibir la actividad contráctil. Sin embargo, el papel de los neurotransmisores sigue sin estar claro, ya que múltiples estudios en una variedad de mediadores han arrojado resultados contradictorios. ^{1,16,18}

Con la experiencia clínica, se sabe que el 99% de los recién nacidos a término y con buena salud excretan el primer meconio dentro de las 24 horas posteriores al nacimiento. Otros niños sanos pasan al menos 48 horas después del nacimiento. Entre los bebés prematuros sin dismotilidad intestinal, el 40% de ellos excretan el meconio en 24 horas y otro 30% a 48 horas. El momento, cuando el recién nacido excreta el primer meconio, es un factor pronóstico importante. ²

Criterios:

- ❖Tipos dismórfico con número normal o levemente disminuido de células ganglionares
- ❖Tamaño considerablemente menor de las células y sus núcleos.
- ❖Presentación después del nacimiento con distensión abdominal, vómitos, intolerancia a la alimentación.

- Planteamiento de problema

- Se desconoce el estado que guardan el número de las células de Cajal en los niños que tienen inmadurez de los plexos nerviosos entéricos, no sabemos si el número de las mismas tiene alguna repercusión en la evolución de su padecimiento, por lo tanto, es necesario determinar si las células del plexo de Cajal en el intestino tienen alguna asociación con la inmadurez intestinal de los niños.

- Pregunta de investigación

- Existe asociación en la alteración del plexo de Cajal intestinal en niños con inmadurez de los plexos nerviosos del colon.
- Existe asociación en niños con inmadurez neuronal intestinal y alteraciones del plexo de Cajal intestinal.

- Justificación

- No hay estudios de este tipo descritos en la literatura.
- Permitiría el conocer si existe asociación entre el plexo de Cajal y la inmadurez intestinal neuronal, establecer un pronóstico, explicar la historia natural de la pseudoobstrucción en algunos casos, así como profundizar en la fisiología del plexo de Cajal.
- No está claro es el papel fisiológico del plexo de Cajal ni su relación con plexos ganglionares.
- No se sabe si al igual que otros tejidos el plexo de Cajal sufre procesos de maduración.
-

- Hipótesis

- Los pacientes con inmadurez neuronal intestinal presentan mayores alteraciones morfológicas y/o cuantitativas de las células del plexo de Cajal.

- Objetivos

- General
 - Describir las características que guarda del plexo de Cajal en pacientes con inmadurez neuronal intestinal.
- Especifico
 - Cuantificar las células de Cajal que existen por milímetro cuadrado en la capa muscular interna del colon de biopsias de pacientes con inmadurez neuronal intestinal, de pacientes con enfermedad de Hirschsprung, y de pacientes sin enfermedades intestinales primarias.
 - Describir los aspectos morfológicos de las células de Cajal en pacientes con inmadurez neuronal intestinal, así como tamaño, características nucleares, distribución, expresión de factores de proliferación nuclear (en lo posible mitosis y apoptosis), en pacientes con enfermedad de Hirschsprung, pacientes con inmadurez intestinal, así como correlación con clínica, manometría y evolución, estado de la motilidad intestinal de los pacientes.

- Diseño de estudio

- Observacional, transversal, ambispectivo, analítico/comparativo, ciego para los observadores.
- Medir la cantidad de células de Cajal que existen por milímetro cuadrado en la capa muscular interna en condiciones normales y sus aspectos morfológicas así como tamaño, características nucleares, distribución, expresión de factores de proliferación nuclear (en lo posible mitosis y apoptosis), en pacientes con enfermedad de Hirschsprung, pacientes con inmadurez intestinal, así como correlación con clínica, manometría y evolución, estado de la motilidad intestinal de los pacientes.

- Población y variables a estudiar

- Niños del Hospital Infantil de México Federico Gómez.
- Muestras de colon de pacientes de autopsias sin enfermedades metabólicas, malformaciones congénitas o enfermedades intestinales primarias aparentes.
- Menores de 1 año de edad.
- Biopsias de niños con enfermedad de Hirschsprung.
- Biopsias de niños con inmadurez intestinal.
- Variables
 - Edad.
 - Sexo.
 - Procedencia.
 - Antecedentes personales no patológicos.
 - Expresión de anticuerpos Anti-Calretinina, S-100, Enolasa, NeuronoEspecifico, Ki-67, BCL-2.
 - Manometría anorectal.
- Tamaño de células de Cajal, características nucleares, distribución.
- Sociales, familiares, fisiológicos, histopatológicos, bioquímicos.

Variable	Valor	Tipo de Variable
❖ Edad	0-12 meses	Variable cuantitativa
❖ Sexo	-1.- Masculino - 2.- Femenino	Variable nominal
❖ Antecedentes Personales Patologicos	-Enfermedades -Cirugías	Variable cualitativa
❖ Expresión de anticuerpos	- Anti-Calretinina -S-100, - Enolasa NeuronoEspecifico - Ki-67 - Bcl-2, - CD117	Variable cualitativa Variable cuantitativa
❖ Manometria	-Normalidad del reflejo rectoanal -Anormalidad del reflejo rectoanal	Variable cuantitativa
❖ Celulas de Cajal	-Cantidad por mm2 -Tamaño en micras -Características nucleares -Distribución	Variable cualitativa Variable cuantitativa

- Definición operativa de las variables

- Edad

- Definición operacional: Tiempo transcurrido del nacimiento al momento de la inclusión al estudio
- Escala de medición: Cuantitativa, continua.

- Sexo

- Definición conceptual: Masculino o femenino
- Escala de medición: Nominal

- Antecedentes personales patológicos

- Definición conceptual: Enfermedades que presentó o presenta actualmente un paciente.
- Escala de medición: Cualitativa

- Expresión de anticuerpos

- Definición conceptual:
- Escala de medición:

- **Manometria**

- Definición operacional:

- Escala de medición:

- **Celularidad**

- Estadios: escala variable, extrapolada en escala de Shimada

- Escala de medición: cualitativa, ordinal

- **Limitaciones del estudio**

- Ambispectivo

- Enfermedades poco frecuentes

- Estudio estático (no permiten evaluar la continuidad del proceso “ muestras representativas de todo el proceso”)

Método

Se realizará un estudio observacional, transversal, ambispectivo, analítico/comparativo, ciego para los observadores. Se incluirá a los niños y niñas menores de 12 meses de edad pacientes del Hospital Infantil de México Federico Gómez, con diagnóstico patológico previo de inmadurez neuronal intestinal, enfermedad de Hirschsprung y pacientes sin enfermedades intestinales primarias en el periodo de junio de 2015 a enero 2020. Se recopilara expedientes de pacientes previamente seleccionados del servicio de cirugía pediátrica colo-rectal del Hospital Infantil de México Federico Gómez, haciendo una búsqueda de estudios patológicos correspondientes así como datos de importancia para nuestra causa, posteriormente se acudiría al servicio de patología para la recopilación de muestras de patología de cada caso, se visualizará mediante microscopio las muestras mencionadas por medico adscrito al servicio de patología, sin comentar datos clínicos ni patología de base del paciente, solo localización de la muestra examinada.

Se describirá las características morfológicas, nucleares y de distribución, a laminillas seleccionadas se les realizarán tinciones para la expresión de anticuerpos específicos (Anti Calretinina, S-100, Enolasa NeuronoEspecifico, Ki-67, Bcl-2, CD117) como testigo se utilizarán cortes de apéndice cecal normal, posteriormente se realizará prueba de ANOVA para determinar si las medias son diferentes.

Se clasifico en estadios los diferentes grados de maduración de los neuroblastos

Se definió neuroblasto inmaduro como células pequeñas de 6-10 micras, redondas, de escaso o nulo citoplasma visible.

Se definió neuroblasto diferenciado parcial como células de 11-20 micras, con núcleo excéntrico, escaso citoplasma eosinofilico.

Se definió neurona madura como células de ≥ 40 micras, núcleo excéntrico, citoplasma amplio

Estadio I.- Cuando 2/3 partes (75%) corresponden a neuroblastos (figura 1)

Estadio II.- Cuando entre 50-75% de las células de neuroblastos se encuentran en estado inmaduro (figura 2)

Estadio III.- Cuando $\leq 25\%$ se encuentran en estadio inmaduro, resto en estado diferenciado parcial o neuronas maduras (figura 3)

Estadio IV.- Cuando $\geq 75\%$ corresponden a neuronas maduras (figura 4)

Plan de análisis estadístico

Se utilizara estadística simple con las variables (edad, sexo, antecedentes personales no patológicos, expresión de anticuerpos, manometría anorectal) con finalidad de encontrar una media, mediana y moda con las mismas, así como intervalo de confianza de la media, se realizara análisis de varianza (prueba de ANOVA) que nos permitirá determinar, si diferentes variables muestran diferencias significativas en sus resultados o si por el contrario puede suponerse que sus medias poblacionales no difieren, posterior realizar correlación entre los hallazgos histopatológicos y los clínicos. Los diferentes análisis se realizarán con el paquete IBM SPSS versión 25.

Cronograma de actividades

Actividades	Primer año		Segundo año		Tercer año	
	Semestre					
	1°	2°	3°	4°	5°	6°
Revisión bibliografica	X					
Elaboración de marco teorico	X					
Preparación del primer informe	X	X				
Selección de pacientes		X				
Búsqueda de expedientes		X				
Recopilación de datos		X				
Búsqueda de reporte histopatologico		X				
Recopilación de laminillas		X				
Observación de laminillas con servicio de patología		X	X			
Realización de expresión de anticuerpos en laminillas seleccionadas			X			
Preparación del segundo informe			X			
Análisis de datos			X	X		
Elaboración de conclusiones				X		
Corrección				X	X	
Entrega de tesis					X	

Resultados

Del período de junio de 2015 a enero 2020, se realizó un estudio retrospectivo en 84 expedientes, donde se encontraron en el registro del Departamento de Patología del Hospital Infantil de México Federico Gómez, 5 pacientes que cumplieron nuestros criterios de inclusión:

- En cuanto a la edad gestacional: 2 pacientes fueron prematuros (36 SDG), el resto de término (2 pacientes de 37 SDG y 1 paciente de 39 SDG).

En cuanto al sexo: 4 pacientes fueron femeninos y 1 masculino (Relación M:H de 4:1); todos los pacientes fueron originarios de la ciudad de México.

La edad del momento del diagnóstico histopatológico fue de la siguiente manera: en 2 se manifestó a los 2 días de vida, 1 al tercer día, 1 a los 30 días y 1 a los 11 meses de edad. (80% en el periodo neonatal)

Los signos clínicos al momento del diagnóstico fueron: 4 pacientes presentaron signos clínicos de oclusión intestinal caracterizada por distensión abdominal, vómito biliar y ausencia de evacuación en las primeras 48 horas de vida (periodo neonatal), sólo un paciente se presentó con cuadro clínico de estreñimiento crónico severo, este fue el paciente que se diagnosticó a los 11 meses de edad.

En cuanto a los reportes histopatológicos: a 4 pacientes se les realizó el diagnóstico de inmadurez neuronal intestinal a través de biopsias transmurales de colon al momento de realizarse la derivación intestinal, en todos los pacientes, la tinción utilizada fue Hematoxilina Eosina (H-E), de estos 4 pacientes, a 2 pacientes además se les realizó reacción de Inmunohistoquímica BCl2 resultando positivo para células ganglionares inmaduras intestinales.

Se realizó nueva revisión de 32 laminillas por el patólogo cegado al momento de realización de este estudio y se encontró:

Paciente 1: plexos nerviosos de Auerbach hipertrófico con la presencia de 5 neuronas ganglionares inmaduras y 3 neuronas intermedias, con estadios I y II.

Paciente 2: plexos de Auerbach Hipertróficos con la presencia de 6 neuronas ganglionares inmaduras y 2 células ganglionares intermedias, con estadios I y III.

Paciente 3: plexos de Meissner eutrófico y presencia de 6 neuronas inmaduras, con estadios I, III y IV.

Paciente 4: plexos de Auerbach con 6 neuronas ganglionares inmaduras, con estadios I, II, III.

Paciente 5: plexos de Meissner eutróficos con 5 neuronas ganglionares inmaduras y 3 neuronas ganglionares intermedias, con estadios I, II y III.

En cuanto al Plexo de Cajal: En los pacientes 1 y 2 encontramos una disminución de más del 75% (paciente 1), y más del 90% (paciente 2) de la cantidad de células de Cajal comparadas con el testigo normal (figura 5), con respecto a los pacientes 3, 4 y 5 las muestras obtenidas por medio de Inmunohistoquímica no fueron concluyentes debido a problemas técnicos.

En cuanto al tratamiento realizado: En todos los pacientes, el manejo inicial fue quirúrgico, a 4 pacientes se les realizó derivación intestinal en el colon, con toma de biopsias intestinales transoperatorias estableciendo el diagnóstico de inmadurez intestinal neuronal en el reporte definitivo.

El paciente que se diagnosticó inmadurez neuronal intestinal a los 11 meses de edad, primeramente se estableció el diagnóstico de Enfermedad de Hirschsprung por un mapeo intestinal que se le realizó en una laparotomía exploratoria por cuadro de oclusión intestinal realizándose derivación intestinal, posteriormente se realizó biopsias rectales donde también se encontró ausencia de células ganglionares y debido a esto se manejó con un descenso transanal tipo Swenson y posteriormente el segmento descendido mostró presencia de células neuronales intestinales maduras. La laminilla de las biopsias rectales fue revisada nuevamente por el patólogo cegado y como ya se mencionó, determinó que había presencia de células inmaduras neuronales intestinales.

En la evolución postoperatoria: A 4 pacientes se le tomaron biopsias rectales abiertas para valorar la maduración de células ganglionares, en 4 pacientes (80%) se demostró maduración al año de edad. (1 a los 10, 1 a los 11 y 2 a los 12 meses de edad). Al 5o paciente se identificó la maduración de las células ganglionares a los 21 meses de edad en la muestra de colon descendido cuando se realizó el descenso transanal, este paciente se realizó derivación intestinal previa al descenso transanal. A 2 pacientes actualmente ya se les cerró la derivación intestinal y en sus consultas subsecuentes presentan función intestinal normal, 1 paciente posterior al cierre del estoma presentó disfunción colónica por lo que ameritó resección del segmento con inmadurez intestinal y descenso transanal, 1 paciente aún es espera de turno quirúrgico para cierre de la derivación intestinal. Todas estas laminillas fueron también revisadas por el patólogo cegado confirmando la maduración de las células ganglionares con morfología normal, así como el tamaño ideal de los plexos mientéricos.

Discusión

El sistema nervioso entérico es la parte más compleja del sistema nervioso periférico. Está constituido por una gran cantidad de células gliales y neuronas: 80 a 100 millones de neuronas, que son una milésima parte de las que existen en el encéfalo, pero mayor cantidad que las que hay en la médula espinal. El SNE proviene de las células de la cresta neural y dan origen a dos plexos nerviosos: submucoso de Meissner y mientérico de Auerbach.¹⁸

Para formar células nerviosas maduras y funcionales, que provienen de la cresta neural, no sólo deben migrar en todo el trayecto del intestino, sino deben proliferar y diferenciarse en una amplia gama de variantes neuronales y células gliales; asimismo, lograr supervivencia y convertirse en células activas y funcionales.

Numerosos estudios de biología molecular se han hecho en múltiples organismos, principalmente ratones, peces, pollos y humanos; también se han realizado análisis genéticos en pacientes con patologías que cursen con aganglionosis como la enfermedad de Hirschsprung, y se han identificado una variedad de moléculas y genes necesarios o involucrados de alguna manera, en el desarrollo del sistema nervioso entérico. ^{19,20}

Las células de Cajal, son células mesenquimales, localizadas entre los nervios entéricos y las células musculares lisas, con cuerpos celulares pequeños y prolongaciones elongadas. Se les clasifica de acuerdo a su distribución. ¹⁸

Existe una estrecha relación entre las neuronas entéricas y las células intersticiales de Cajal. Muchos estudios han mostrado la función de estas células como marcapasos y como reguladoras de la actividad eléctrica, ya que causan despolarizaciones regulares que se conocen como ondas lentas; éstas son transmitidas de forma pasiva al músculo liso y controlan el cronotropismo y el inotropismo. El mecanismo exacto de generación de este proceso no ha sido dilucidado. ^{18,21}.

La actividad de las células intersticiales de Cajal es influida por las neuronas motoras. La estimulación colinérgica aumenta la frecuencia de las ondas lentas o disminuye su frecuencia, pero eleva la duración de la onda. Existen dos formas en la cual los nervios entéricos regulan la actividad muscular. Una es por contacto directo y otra a través de las células intersticiales de Cajal. Estas células pueden funcionar como mecanorreceptores.

Aunque la muestra es reducida debido que solo encontramos cuatro pacientes con inmadurez neuronal intestinal, el material estudiado nos permitió advertir que las neuronas se encontraban en diversos estadios de maduración y que la proporción de neuronas de aspecto inmaduro con neuronas de aspecto maduro era variable, por lo anterior y con el propósito de tratar de clasificar de la manera mas precisa las alteraciones observadas en nuestros pacientes proponemos una clasificación sobre el estadio de maduración de los plexos ganglionares basados de la proporción de neuroblastos o neuronas inmaduras, neuronas en diversos estadios de maduración y neuronas maduras como se muestran en las microfotografías previamente expuestas.

En cuanto a la relación del plexo de Cajal con la inmadurez neuronal intestinal encontramos en el total de pacientes que se logro estudiar el plexo de Cajal (2/5) se demostró que cursan con disminución importante del mismo (superior al 75%) en los pacientes estudiados con inmadurez neuronal intestinal. Desgraciadamente los otros tres pacientes por tratarse de un estudio retrospectivo no se pudo realizar este análisis por problemas técnicos imposibles de resolver. Este hallazgo no ah sido descrito en la literatura y nos parece de crucial importancia para ser explorado en estudios prospectivos.

Existe una estrecha relación entre las neuronas entéricas y las células intersticiales de Cajal en cuanto su origen embrionario común de la capa del ectodermo, el cual provee neuronas del sistema nervioso entérico que regulan la motilidad gastrointestinal, dichas neuronas se dividen en tres tipos de células: cresta neural, tubo neural y ectodérmicas.

11,13+

De la cresta neural se originarán los melanocitos, la medula adrenal, dentina de dientes, los brazos parasimpáticos y brazos simpáticos del sistema nervioso periférico y las neuronas del sistema nervioso entérico. ¹²

Las células del plexo de Cajal se original de las células del tubo neural, por lo cual estas tienen un origen embrionario común, mas sin embargo aun no queda claro su función específica.

En nuestro estudio fueron un total de 5 pacientes, 3 pacientes nacieron a término (mayor 37 Semanas de Gestación) y 2 pacientes fueron pretérmino (36 SDG), donde se refleja que más de la mitad de nuestros pacientes son recién nacidos a término, en un estudio de Burki y cols ²² datos difieren, ya que todos sus pacientes (8), fueron a término. En el trabajo de Małgorzata y cols ² del total reportado (15), 7 fueron recién nacidos prematuros (45%).

En relación al sexo, más de la mitad de nuestros pacientes resultaron del sexo femenino, concuerda con los casos reportados por Niramis y cols ²³ donde el 75% fueron del sexo femenino, el caso reportado por Burki y cols ²², éste era del sexo femenino. Con lo que concuerda con nuestro estudio, por lo que esta patología tiene alguna predilección por el sexo femenino con base a lo reportado en la literatura.

A los 4 pacientes que se le diagnosticaron la patología antes de los 30 días de vida, les realizaron derivación intestinal con biopsias intestinales como manejo inicial, y el paciente quien se realizó colon por enema previo a su manejo inicial, las biopsias rectales reportaron ausencia de células ganglionares compatible con enfermedad de Hirschsprung y se le realizó un descenso transanal en un solo tiempo.

En la literatura se refiere un parámetro para valorar la madurez intestinal con respecto a las células ganglionares, donde se reporta el realizar un control de biopsias rectales entre los 12-18 meses de edad ^{8,10,17,24}, en nuestra investigación la maduración se confirmó a través de biopsias rectales abiertas entre los 10 y 21 meses de edad.

Al hacer la correlación entre el número de neuronas maduras/inmaduras y el número de celular de Cajal no hubo diferencia con la evolución clínica actual; todos los pacientes alcanzaron una función intestinal adecuada, por lo que presumimos que la maduración de las células ganglionares se completo en algún momento de su evolución; Al ser un estudio retrospectivo nos encontramos ante el problema técnico con Inmunohistoquímica, aunque él encontrar esas alteraciones con respecto al diferente estadio en el 100% de los pacientes estudiados, sugiere que hay una correlación en alteraciones del plexo de Cajal específicamente con las células intersticiales de Cajal, en pacientes con inmadurez neuronal intestinal que deberá ser evaluado en estudios futuros idealmente prospectivos.

Sin embargo, nuestros datos contrastan con los reportes de casos en estudios anteriores, porque hay estudios que revelan que la madurez de las células ganglionares puede darse en menos tiempo, como en el estudio de Małgorzata y cols ² donde esta madurez se presentó entre los 2-16.5 meses.

En el estudio de Burki y cols ²², un total de 4 pacientes alcanzaron la madurez entre los 2-9 meses de edad. En el estudio de Niramis y cols ²³, los pacientes reportados alcanzaron la madurez entre los 3-7 meses de edad. Por lo anterior se puede valorar la realización de las biopsias rectales de control antes que el paciente cumpla el año de edad.

Conclusiones

En el Hospital Infantil de México Federico Gómez la inmadurez neuronal intestinal es una entidad extremadamente rara, sólo 5 casos se encuentran registrados con ese diagnóstico en un período de 5 años, en donde encontramos que no mostraron ninguna tendencia a ser ni prematuros ni de término, aunque si mostró mayor predilección por el sexo femenino (80%).

Encontramos asociación entre las alteraciones del plexo de Cajal (diminución de más del 75%) con el grado de inmadurez neuronal intestinal en donde en el 80% de los pacientes incluidos en el estudio alcanzaron un estadio III/IV de inmadurez neuronal a diferencia de los hallazgos de la segunda toma de biopsia intestinal en los mismos pacientes en donde el 80% maduraron a un estadio I/II.

En cuanto al plexo de Cajal, de acuerdo a lo observado con las reacciones de inmunohistoquímica convencional con los anticuerpos (Anti Calretinina, S-100, Enolasa NeuronoEspecífico, Ki-67, Bcl-2, CD117) se encontró franca disminución de las células de Cajal en dos de los pacientes; en el caso del paciente 1 la disminución fue de más del 75% y en el paciente 2 fue mayor del 90% en comparación con el testigo, sin embargo en los otros tres casos fue imposible evaluar el plexo de Cajal por cuestiones técnicas, lo cual disminuye la contundencia de estos hallazgos sin embargo al encontrarse estas importantes alteraciones en los dos casos que se lograron evaluar el plexo de Cajal, asumimos que puede ser un hallazgo que se encuentre en la mayoría de los casos, como asociación.

En cuanto a la inmadurez neuronal intestinal, se elaboró una clasificación especial, hasta donde sabemos que no ha sido descrita previamente, para estadificar los grados de maduración neuronal de los plexos nerviosos intestinales. Lo anterior corresponde a una contribución original de nuestro trabajo.

Por lo que, revisando la literatura y los resultados de nuestro trabajo, en pacientes con oclusión intestinal neonatal, se debe tener en cuenta el diagnóstico de inmadurez neuronal intestinal dentro de los diagnósticos diferenciales, urgencia quirúrgica se puede tener en cuenta la inmadurez neuronal intestinal, en conjunto con los diagnósticos diferenciales, intentando inicialmente un tratamiento conservador, y dejar solo el manejo quirúrgico en caso de no resolverse de forma conservadora, ya que una vez que hay madurez de las células ganglionares en los meses subsiguientes de vida, recobran la función intestinal normal.

Para confirmar la madurez neuronal intestinal se debe realizar biopsias rectales en los primeros meses de vida, sin embargo, aunque no existe un rango específico de edad, es esperable que para los 12 meses de edad los pacientes ya demuestren madurez neuronal intestinal.

Por lo tanto, presumimos que la inmadurez neuronal intestinal se comporta como un proceso transitorio y no como una lesión permanente.

Las alteraciones encontradas en el plexo de Cajal en los pacientes con inmadurez neuronal intestinal debe de ser analizado con estudios prospectivos para conocer su importancia real.

Bibliografía

- 1.- Maggie L. Westfaland Allan M. Goldstein, Pediatric enteric neuropathies: diagnosis and current management, 2017.
- 2.- Małgorzata Markiewicz-kijewska, Adam Kowalski, Ludmiła Bacewicz, Tomasz Drewniak, Hor Ismail, Przemysław Kluge, Piotr Kaliciński, Immaturity of ganglion cells – a study of our own material, The Children’s Memorial Health Institute in Warsaw, 2009.
- 3.- Gershon MD, Jerde SM, The nervous system of the gut. Gastroenterology, 1981.
- 4.- Furness JB, Clere N, Vogalis F, Stebbing MJ, The enteric nervous system and its extrinsic connections. In: Yamada T, Alpers DH, Textbook of gastroenterology. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2003.
- 5-Hayakawa K, Hamanaka Y, Suzuki M et al. Radiological findings in total colon aganglionosis and allied disorders. Radiat Med, 2003.
- 6- Henna N, Naqi AH, Sheikk MA et al. Morphological patterns in children with ganglion related enteric neuronal abnormalities. J Ayub Med Coll Abbottabad, 2011.
- 7- Tatekawa Y, Kanehiro H, Kanokogi H et al. The evaluation of meconium disease by distribution of cathepsin D in intestinal ganglion cells. Pediatr Surg Int, 2000.
- 8- Park SH, Min H, Chi JG et al. Immunohistochemical studies of pediatric intestinal pseudo- obstruction: bcl2, a valuable biomarker to detect immature enteric ganglion cells. Am J Surg Pathol, 2005.
- 9- Kobayashi H, Yamataka A, Yokota H, Watanabe A et al. Intestinal neural dysplasia (IND). Jpn J Pediatr Surg, 2000.
- 10- Holschneider AM, Meier-Ruge W, Ure BM. Hirschsprung’s disease and allied disorders: a review. Eur J Pediatr Surg. 1994
- 11- Puri P, Rolle U. Variant Hirschsprung’s disease. Semin Pediatr Surg. 2004.
- 12- Ure BM, Holschneider AM, Schulten D et al. Clinical impact of intestinal neuronal malformations: a prospective study in 141 patients. Pediatr Surg Int. 1997.
- 13- Puri P, Gosemann JH. Variants of Hirschsprung disease. Semin Pediatr Surg. 2012.
- 14.-Russo P, Ruchelli E, Piccoli D. Pathology of pediatric Gastrointestinal of liver disease. Second Edition. 2016.
- 15- Schärli AF. Neuronal intestinal dysplasia. Pediatr Surg Int. 1992.

- 16- Friedmacher F, Puri P. Classification and diagnostic criteria of variants of Hirschsprung Disease. *Pediatr Surg Int.* 2013.
- 17- Malgorzata Markiewicz- K, Kowalski A, Bacewicz L et al. Immaturity of Ganglion Cells- A study of Our Own Material. *Polish Journal of Surgery.* 2009.
- 18.- Mazzone A, Farrugia G. Evolving Concepts in the Cellular Control of Gastrointestinal Motility *Neurogastroenterology and Enteric Sciences. Gastroenterol Clin N Am* 2007.
- 19.- Burns A, Roberts R, Bornstein JC. Development of the enteric nervous system and its role in intestinal motility during fetal and early postnatal stages. *Semin Pediatr Surg* 2009.
- 20.- Heanue T, Pachnis V. Enteric nervous system development and Hirschsprung's disease: advances in genetic and stem cell studies. *Nat Rev Neurosci* 2007.
- 21.- Randa M, Yasser M, Hamdy H. Interstitial cells of Cajal: the Maestro in health and disease. *World J Gastroenterol* 2010.
- 22.- Burki T ,Kiho L , Scheimberg I et al. Neonatal functional intestinal obstruction and the presence of severely immature ganglion cells on rectal biopsy: 6 year of experience. *Pediatr Surg Int.* 2011.
- 23.- Niramis R, Tongsin A, Lertsatit A et al. How to manage low gut obstruction in neonates with immature ganglion cells in the colonic Wall?. *J Med Assoc Thai.* 2014.
- 24.- Danijela Jojkić P, Melanija V, Nada V et al. Immature colonic ganglion cells as a cause of megacolon in infancy: a case report. *Paediatr Croat.* 2014.
- 25.- Chatten J, Shimada H, Sather HN, Wong KY, Siegel SE, Hammond GD. Prognostic value of histopathology in advanced neuroblastoma: a report from the Childrens Cancer Study Group. *Human Pathol.* 1988.

Anexos

Revisión de laminillas

Paciente	Laminilla	Estadio Neuroblasto
1	Q-14-907-9	I
	Q-2015-1173	II
2	Q-18-886-1	III
	Q-18-886-2	I
	Q-18-886-3	III
3	Q-17-1632-1	IV
	Q 2008 2542	0
	Q 2016 2135	III
	Q 2016 2428	II
	Q 2017 632	IV
4	Q-17-718-1	III
	Q-17-718-5	0
	Q-17-718-6	0
	Q-17-718-7	I
	Q-17-718-8	I
	Q-17-718-9	0
	Q-17-718-10	II
	Q-17-718-11	0
	Q-16-1582-1	0
	Q-16-1582-2	II
	Q-2016-1582	0
	Q-2016-1686	0
5	Q-09-544-1	III
	Q-09-544-2	0

Paciente	Laminilla	Estadio Neuroblasto
	Q-09-544-3	0
	Q-09-544-4	0
	Q-09-544-5	0
	Q-09-544-6	0
	Q-09-544-7	0
	Q-09-544-8	I
	Q-09-544-9	II
	Q 2008 1882	III

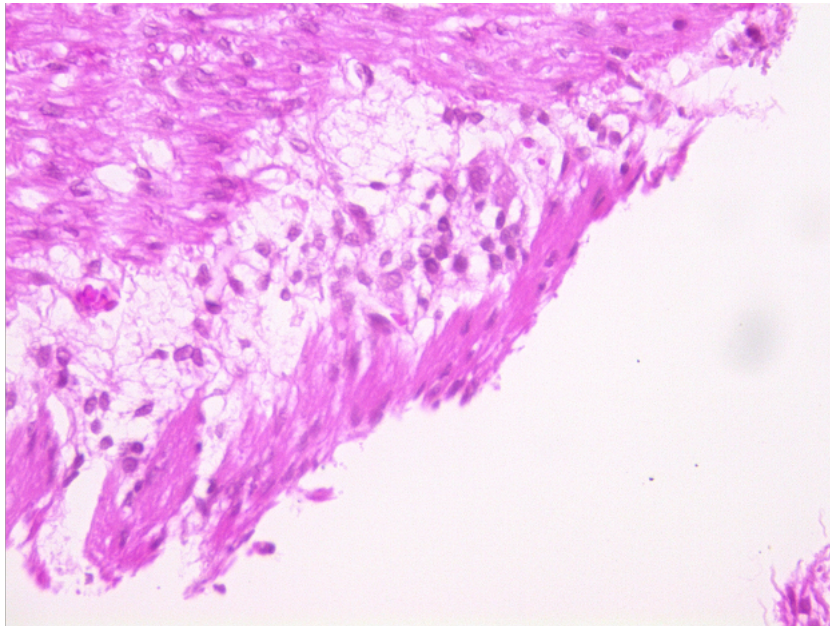


Figura 1. En esta microfotografía se observa Plexo de Auerbach que muestra doce células pequeñas (entre diez y quince micras de diámetro), tres de ellas con escaso citoplasma eosinofilo, que corresponden a neuroblastos inmaduros; esta imagen es representativa de estadio I de maduración. Hematoxilina- Eosina. Aumento original por 40X.

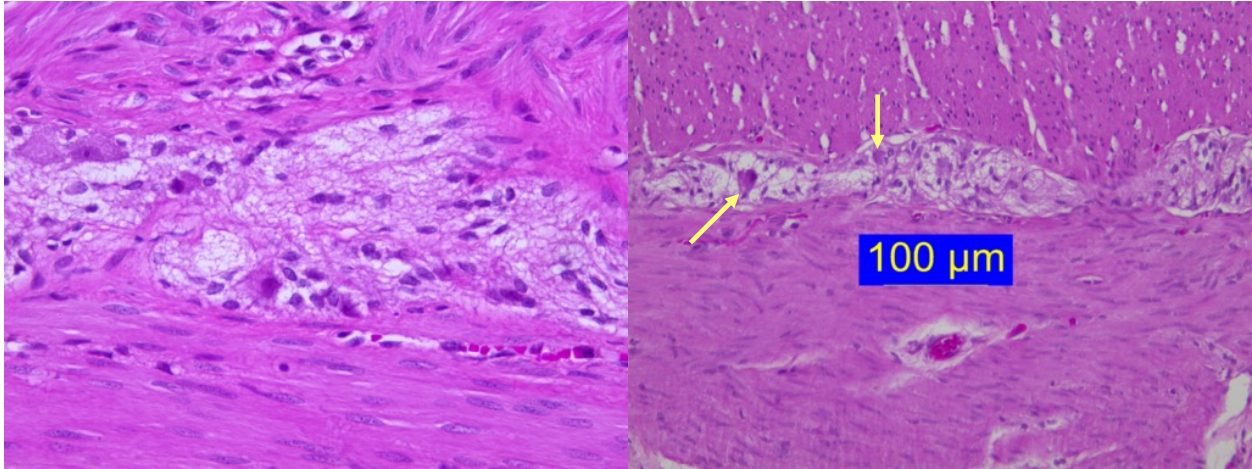


Figura 2. La imagen muestra plexo de Auerbach con una mezcla de neuroblastos (estimado: 50%) y de neuronas inmaduras con escaso citoplasma eosinófilo (flechas); esta imagen es representativa de estadio II de maduración. Hemotoxilina-Eosina. Aumento original por 20x.

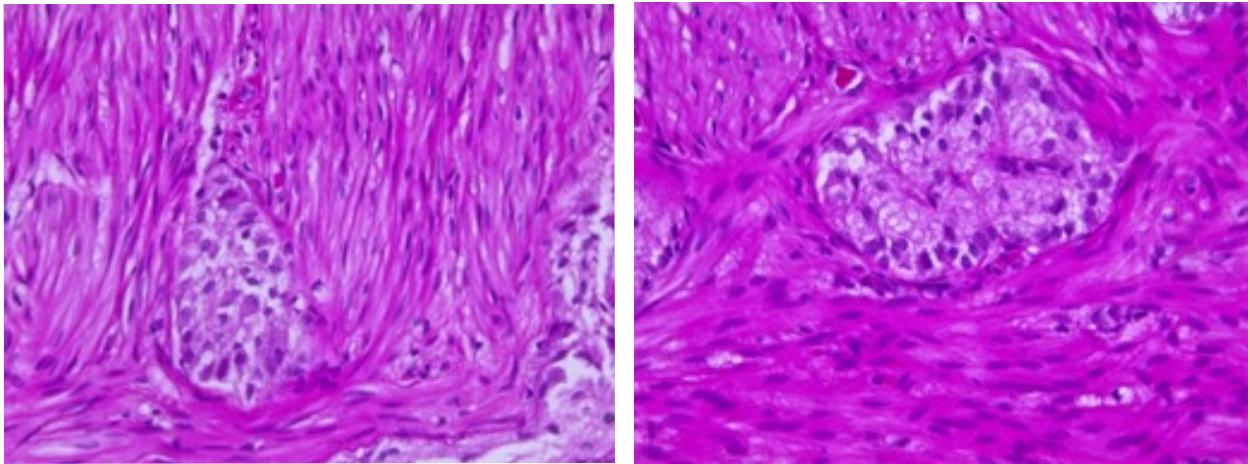


Figura 3. Plexo mientérico que muestra neuronas en diversos estadios de maduración, alrededor de dos tercios de ella parcialmente diferenciadas, dado que muestran citoplasma **eosinófilo igual o mayor al tamaño del núcleo**; esta imagen es representativa de estadio III de maduración. Hematoxilina-Eosina. Aumento original por 40X.

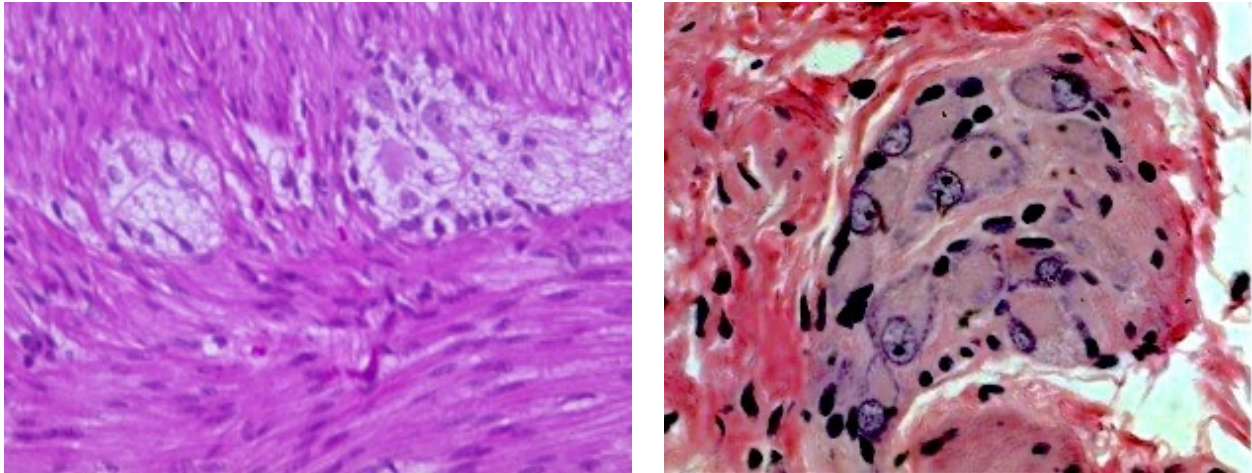


Figura 4. En estas imágenes, se aprecian neuronas de aspecto maduro (que corresponden a estadio IV de maduración) son de 30 micras de diámetro, con núcleo excéntrico, nucleolos prominentes, citoplasma amplio, anfófilo y gránulos basofilos en la periferia de las células que corresponden a la sustancia de Nissl. Hematoxilina-Eosina. Aumento original por 40X.

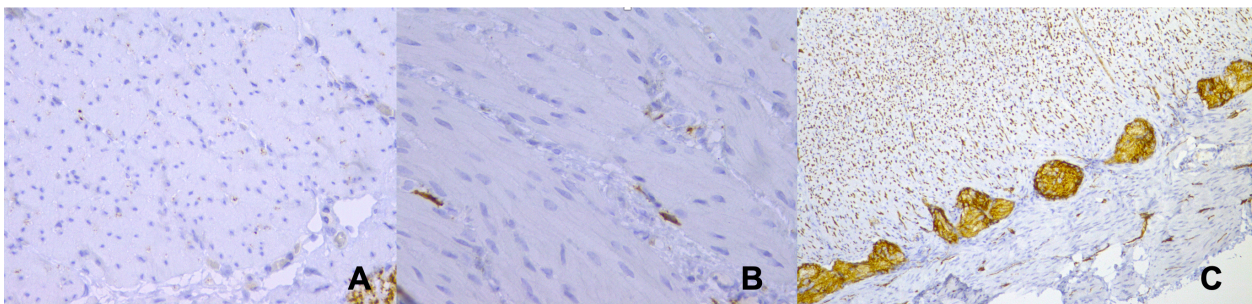


Figura 5. A: Se observa en la microfotografía tomada de biopsia transmural de paciente 1 en donde se demuestra mas del 75% de disminución de células intersticiales de Cajal en comparación con testigo (c), B: Paciente 2 en donde se demuestra mas del 90% de disminución de células intersticiales de Cajal en comparación con testigo (c), C: Testigo corresponde a un apéndice cecal sin alteraciones. En todos los paneles se muestra la reacción con anticuerpos Anti Calretinina. Magnificación original en A y B fue de 40x, mientras que en C fue de 20x.