

CORRELATO.

ASPECTOS HISTOQUIMICOS EN EL MEGACOLON*

Dres. N. J. REISSENWEBER,** W. MEERHOFF**
y N. GARCIA DE MEERHOFF

INTRODUCCION

La patogenia de la enfermedad de Hirschsprung, así como de algunas formas del megacolon adquirido, permanece todavía sin resolverse completamente. La insistencia en el estudio patológico y la patología experimental han arrojado, sin embargo, luz sobre algunos de los aspectos del proceso. La utilización de técnicas relativamente recientes contribuye igualmente a aclarar estos problemas. En este sentido, creemos que el estudio histoquímico resulta singularmente fructífero.

Dos grandes dificultades enfrentan al patólogo en el estudio del megacolon. La primera consiste en la necesidad de una observación cuidadosa de gran cantidad de cortes de zonas diferentes, ya que las modificaciones pueden ser más o menos localizadas. En segundo lugar, considerar la posibilidad de establecer un diagnóstico diferencial microscópico entre megacolon congénito y adquirido, e incluso, en raras ocasiones, enunciar un diagnóstico etiológico.

MATERIAL Y METODOS

Nuestro material comprende 10 casos: 4 enfermedades de Hirschsprung, 4 megacolon adquiridos y 2 biopsias rectales también en megacolon adquirido.

Se procedió a seccionar el colon longitudinalmente por el borde antemesentérico. Inmediatamente se tomaron fragmentos longitudinales para el estudio enzimológico oxidativo, otros se fijaron en el líquido de Holt (13) a 4° centígrados durante 24 horas para el estudio de las hidrolasas.

* Trabajo realizado en el Departamento de Anatomía Patológica, Hospital de Clínicas.

** Asistentes del Departamento de Anatomía Patológica, Hospital de Clínicas.

Los segmentos que a posteriori se impregnarían, se fijaron, según el caso, en formol al 20 % neutralizado o en el líquido de De Castro.

El resto de la pieza se fijó extendida sobre una plancha de corcho, en formol al 10 % para técnicas corrientes (hematoxilina-eosina, Alcian Blue-PAS, tricrómico de Cajal Gallego, orceína, mucicarmin, etc.).

De la zona dilatada se tomaron segmentos longitudinales de 4 cm. de largo por 0,5 cm. de ancho, del borde mesentérico y antemesentérico.

De la zona estrechada y de la zona de transición, dependiendo de la longitud de la misma, se tomaron varios fragmentos transversales de 1 cm. de espesor.

Los cortes de todos los fragmentos se hicieron seriados, agotando el material del bloque de parafina.

Se tomaron controles del segmento sigmoideo rectal, en pacientes de diversas edades, fallecidos sin patología digestiva.

Los métodos histoquímicos fueron efectuados según las instrucciones de Barka y Anderson (2) (1963). Las actividades enzimáticas detectadas incluyeron: esterasas simples, fosfatasas ácidas y alcalinas, tiaminopirofosfatasas, succinodehidrogenasas, glucosa 6 fosfato dehidrogenasas, lacticodehidrogenasas, ATPasas, DPNdiaforasas y Acetilcolinesterasas.

El estudio completo siguiendo las directivas expuestas se realizó en dos megacolon congénitos, dos megacolon adquiridos y en una de las biopsias rectales.

Expondremos brevemente algunas recomendaciones que son útiles para la conservación y el estudio correcto del material.

1) La pieza quirúrgica o biopsia debe ser recogida inmediatamente en fresco o en suero fisiológico a 4° centígrados. En caso de no poder ser entregada de inmediato al patólogo y siempre que el cirujano carezca de los fijadores especiales, será necesario conformarse con una fijación clásica en formol al 10 %, lo cual impedirá la realización de algunas técnicas de impregnación y las detecciones histoenzimológicas.

La fijación rápida y correcta tiene como finalidad evitar la aparición de cambios involutivos que distorsionen la citoarquitectura ganglionar.

2) Los cortes del sector estenosado deben ser seriados, pues el aganglionismo puede adoptar una forma discontinua alternando segmentos patológicos con zonas normales (24).

3) En los preparados llevados a cabo con los procedimientos tintoriales comunes no se puede precisar los detalles de las anomalías plexurales, debiéndose recurrir a técnicas especiales, Bielschowsky, Cajal, Nissl, etc.

4) La pieza obtenida por biopsia rectal debe provenir de un sitio relativamente alto del recto (4, 24, 29) por encima del

esfínter interno y extirpar suficiente tejido que comprenda la totalidad de la capa muscular para poder efectuar una apreciación adecuada de los elementos ganglionares.

La tabla I expone brevemente los datos clínicos fundamentales de los pacientes estudiados.

Tabla I

Casos	Tipo de megacolon	Edad	Sexo	Reacciones serol. Chagas
(F. G.)	Congénito	12 años	M.	()
2 (E. C.)	"	4 "	M.	(?)
3 (F. B.)	"	14 meses	M.	(?)
4 (N. S.)		4 años	M.	(?)
5 (F. Q.)	Adquirido	60 "	M.	(+)
6 (R. L.)		70 "	M.	(?)
7 (A. L.)		80 "	M.	(?)
8 (A. F.)		37 "	M.	(+)
9 (C. E.)	"	68 "	M.	(+)
10 (J. L.)		45 "	M.	(+)

RESULTADOS

Consideraremos por separado los casos congénitos y los adquiridos.

Los Hirschsprung estudiados correspondían a las formas rectosigmoideas de Roviralta (24). En general fue posible reconocer en la pieza de resección tres segmentos: Una zona dilatada de paredes hipertrofiadas, que se continúa luego de un corto segmento de transición o cuello con la porción inferior o distal de paredes adelgazadas.

El estudio histopatológico mediante técnicas convencionales demostró alteraciones que se ajustaron en un todo a la descripción clásica de esta entidad (4, 6, 8, 9, 18, 19, 24, 27, 28, 31).

En el primer caso, en el cabo proximal, si bien los elementos ganglionares del plexo de Auerbach y de Meissner eran normales, estaban disminuidos en su número y rodeados por discretos infiltrados linfoplasmocitarios.

Desde el segmento medio al distal, se observa una disminución progresiva del número de células ganglionares que llega a un aneuronismo prácticamente total en este último. A nivel del plexo de Auerbach, las escasas neuronas remanentes presen-

tan fenómenos de vacuolización citoplasmática, signos de necrobiosis con picnosis y lateralización del núcleo, imágenes de neuronofagia e hiperplasia de las células capsulares.

Se observan algunas neuronas en el espesor de la capa muscular interna.

Aunque su disminución y las alteraciones de las células ganglionares son más marcadas a nivel del plexo de Auerbach, también está afectado el plexo de Meissner. Las fibras nerviosas amielínicas aparecen rodeadas por moderados infiltrados linfoplasmocitarios, algunos neutrófilos y una llamativa predominancia de eosinófilos. Existe una hipertrofia de la capa muscular, sobre todo interna, a predominio en los segmentos proximal y medio. Salvo evidencias de una discreta hiperactividad mucosecretora, no hay alteraciones a nivel de la mucosa. El espacio conjuntivo que separa las dos capas musculares está muy disminuido y éstas se disponen apretadamente entre sí, adoptando el aspecto denominado en "emparedado" por Swenson (27).

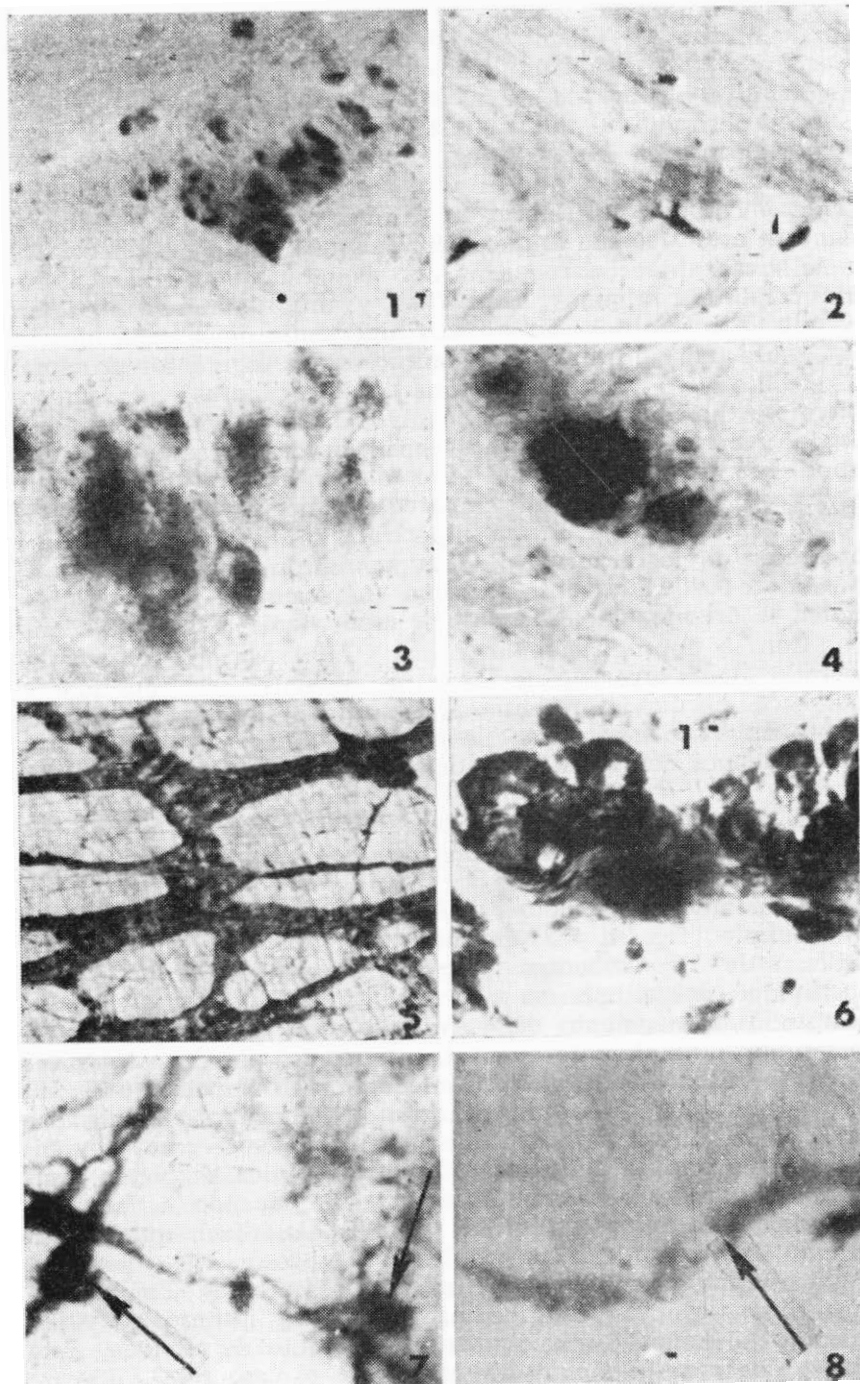
Llama la atención una hipertrofia asimétrica de la capa muscular de las arteriolas de la submucosa y serosa, que se repite en cortes seriados. La zona engrosada de la pared arteriolar se orienta casi en todos los casos hacia la luz intestinal.

Con la impregnación argéntica (Cajal) se observa un desarrollo algo exagerado de los haces fibrilares intermusculares. Los haces nerviosos presentan irregularidades y trayectos sinuosos con "varicosidades". Se observan finas arborizaciones y terminaciones nerviosas, sobre todo a nivel de la capa muscular interna.

El segundo, tercero y cuarto casos, permiten comprobar hipoganglionismos marcados del segmento distal con escasos elementos inflamatorios.

En cuanto a los métodos histoquímicos empleados, la esterase simple (figs. 1 y 2) permite una rápida y segura identificación de los elementos ganglionares en base a la intensa positividad del citoplasma neuronal. En el paciente N° 1 se comprobó un segmento de 4 cm. de largo correspondiente al sector distal, totalmente aneural, a nivel del plexo de Meissner y de Auerbach. El segmento inmediatamente superior presenta muy escasos elementos ganglionares. Existen neuronas aisladas en la capa muscular interna con prolongaciones gruesas y bizarras, con intensa actividad. Con esta técnica se ponen también de manifiesto células inflamatorias rodeando neuronas y sobre todo haces nerviosos del plexo de Auerbach que ocasionalmente se comunican con el plexo submucoso.

La fosfatasa ácida mostró imágenes semejantes. En las neuronas del segmento intermedio, se observa intensa actividad enzimática, indicando posiblemente fenómenos de citólisis. Este tipo de imágenes era muy abundante en el caso N° 3.



El estudio de la acetilcolinesterasa, en cortes paralelos a la superficie mucosa, pone en evidencia la riqueza y complejidad del plexo intermuscular, así como una intensa actividad enzimática superior a la observada en tejidos normales. Aparecen claramente delineadas en cortes sucesivos, las fibras de interconexión entre el plexo intermuscular y el submucoso. Por debajo de la mucosa, en íntimo contacto con ésta e introduciendo algunas ramificaciones en el corion, se observa una zona de actividad con ramificaciones muy finas, que recibe ramas de los ganglios de Meissner. Este plexo yuxtamucoso contiene escasas neuronas, apareciendo como una dependencia del plexo de Meissner. En el caso N° 4 el segmento distal presentaba marcada disminución de actividad del plexo yuxtamucoso coincidiendo con áreas de hipotrofia de la mucosa colonica (figs. 7 y 8). De los mismos plexos surgen ramos acetilcolinesterasa positivos que acompañan las arterias y contribuyen a su innervación.

Entre las enzimas oxidativas, la glucosa 6 fosfato dehidrogenasa pone en evidencia con notable claridad las neuronas y sus prolongaciones (fig. 5). A nivel de estas últimas, la actividad estaría localizada en las células de Schwann. También se observan las neuronas de Cajal, cuyos caracteres son todavía discutidos.

La DPN Diaforasa da imágenes semejantes aunque no tan netas. Ambas enzimas revelaron con claridad los hipoganglio-

Fig. 1: Corte correspondiente a la zona superior sigmoidea de un colon de una enfermedad de Hirschsprung. La detección de la actividad en esterasa simple muestra el plexo de Auerbach con una densidad neuronal semejante a la normal. 60 X. Fig. 2: Del mismo caso que la anterior, este corte de la zona de transición entre el segmento dilatado y el estrechado muestra con la esterasa simple escasas neuronas en el plexo de Auerbach. 60 X. Fig. 3: La detección de la actividad en Fosfatasa ácida pone en evidencia en las neuronas del plexo de Auerbach de un megacolon adquirido la actividad citoplasmática granular (lisosomas). Este es el aspecto considerado normal. Sector proximal de la pieza de resección. 240 X. Fig. 4: En una zona inferior del mismo caso anterior la Fosfatasa ácida muestra neuronas del plexo intermuscular con intensa actividad extendida al citoplasma que ha perdido el carácter granular. 240 X. Fig. 5: Un corte que pasa exactamente a nivel del plexo de Auerbach (paralelo a la superficie mucosa) incubado en el medio para detección de la glucosa-6-fosfato dehidrogenasa revela la complejidad del plexo nervioso, su riqueza y las numerosas fibrillas que atraviesan la capa muscular. 60 X. Fig. 6: Incubado en el medio para detección de la Adenosin trifosfatasa, un corte del segmento inferior de un megacolon adquirido demuestra la hipertrofia de los gliocitos perineurales que aparecen densamente impregnados. 240 X. Fig. 7: Corte correspondiente a un segmento indemne de un megacolon adquirido. La detección de la Acetilcolinesterasa muestra el plexo de Meissner y sus ramas de comunicación, así como un delicado plexo submucoso al cual van fibras procedentes del Meissner. La mucosa está hacia la esquina superior derecha. Las flechas indican los grupos neuronales del plexo submucoso. 120 X. Fig. 8: Corte correspondiente al extremo distal del mismo caso anterior. El plexo de Meissner está notablemente reducido y lo mismo sucede con el área de actividad que queda por debajo de la mucosa (flechas). 120 X.

nismos en los segmentos distales. Algunos de los ganglios carecían de neuronas o éstas tenían muy poca actividad, mientras que un ganglio próximo podía aparecer relativamente conservado.

En cuanto a los casos de megacolon adquiridos, las piezas de resección diferían macroscópicamente de modo significativo de las formas congénitas (1, 7, 11, 12, 13, 16, 23, 30). Así, en general, el segmento dilatado se extendía distalmente abarcando la mayor parte del recto que no presenta el desfiladero estrechado del Hirschsprung. El caso N° 5 tenía, además de un megacolon rectosigmoideo, un megaapéndice y un megadivertículo de Meckel. Microscópicamente, el colon de este paciente evidenció que no existía un aneuronismo total en ningún segmento. Sin embargo, llamó la atención una notable disminución de su número, en zonas del segmento rectal. A ese nivel las neuronas remanentes mostraron en ocasiones figuras netas de degeneración. Fue posible reconocer elementos con vacuolización citoplasmática mínima, hasta picnosis con intensa eosinofilia del protoplasma que hacía difícil la individualización de las neuronas. Entre estos extremos se observaron todos los tipos de figuras de la patología neuronal, incluyendo disminución más o menos marcada de la basofilia, neuronofagia e hipertrofia y edema de los gliocitos capsulares.

El espacio celular intermuscular contiene exudados a polimorfonucleares y eosinófilos con tendencia a localizarse alrededor de los ganglios y plexos.

La mucosa muestra edema a nivel del corion e hiperplasia de los folículos linfoides de la submucosa. En la muscular se observa una hipertrofia importante de la capa interna. En el paciente N° 6 los fenómenos inflamatorios adquieren gran entidad. Sobre un proceso inflamatorio crónico difuso o inespecífico extendido a todas las capas del órgano, se agrega una intensa reacción inflamatoria aguda dominante en la submucosa, que a ese nivel presenta áreas de ulceración, que dejan al descubierto un tejido de granulación con abundantes vasos neoformados. Se aprecian también algunas venas trombosadas. El proceso se extiende al meso en la parte inferior o distal.

El proceso inflamatorio afecta en grado importante la capa muscular, desorganizando y fragmentando sus haces, incluso en zonas en que la mucosa está relativamente bien conservada.

En cuanto a los plexos nerviosos, se comprueba la existencia de ganglios, tanto en los segmentos altos como bajos, pero no son muy abundantes. En el cabo inferior se observan elementos neuronales del plexo de Auerbach incluidos en el ambiente inflamatorio y con evidentes signos de sufrimiento. En el segmento proximal el proceso inflamatorio es moderado.

El caso N° 7 era en todo semejante al anterior. El estudio en el paciente N° 8 reveló una distribución menos gradual de

las lesiones, de manera que el hipoganglionismo y los fenómenos inflamatorios no mostraban especial predilección por el segmento inferior.

La biopsia en el caso N° 9 mostró, además de un aganglionismo de ambos plexos, un proceso fibroproductivo a nivel de las capas musculares, de tal manera que éstas aparecían amputadas por tejido fibroso a gran contenido en fibras elásticas (fig. 9). Esta sustitución se extendía prácticamente desde la serosa a la mucosa y se acompañaba de muy escaso exudado linfoplasmocitario. En cambio, en el caso N° 10, fuera de un aganglionismo del plexo de Auerbach, no se comprobaron lesiones inflamatorias significativas.

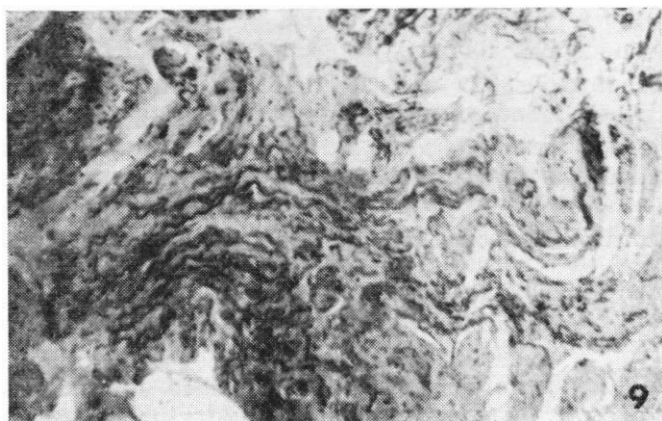


Fig. 9.—Megacolon adquirido. Caso N° 9. Biopsia rectal. Gran parte de la capa muscular ha sido sustituida por tejido conjuntivo fibroso, en el seno del cual se observan gran cantidad de fibras elásticas. Orceína. 120 $\times$.

En cuanto a las técnicas histoquímicas aplicadas al megacolon adquirido, la esterasa simple nuevamente fue útil para poner de manifiesto la disminución de la población neuronal. Las neuronas con fenómenos degenerativos, frecuentemente difíciles de reconocer como tales en preparaciones comunes destacan aquí con gran nitidez.

La fosfatasa ácida revela neuronas con actividad aumentada y agranular (figs. 3 y 4), sobre todo en zonas donde el proceso inflamatorio es más marcado. La tiaminopirofosfatasa dibuja a nivel histoquímico el aparato de Golgi neuronal en forma neta, mostrando pequeños filamentos o gránulos en el segmento sigmoideo de la mayoría de los pacientes, mientras que a nivel de las neuronas del segmento rectal, la actividad era nula o finamente granular.

A nivel de los plexos nerviosos aparecen siempre capilares con marcada actividad en fosfatasa alcalina. En las zonas más afectadas del segmento rectal, estos capilares activos son muy abundantes.

En los plexos, la actividad enzimática en adenosintrifosfatasa es muy intensa. A nivel de las células capsulares dibuja, en el segmento rectal, la hipertrofia de las mismas (fig. 6).

La actividad enzimática en succinodehidrogenasa mitocondrial es más reducida en las neuronas de los segmentos inferiores o distales. En esa zona existen diferencias notorias entre neuronas oscuras y otras con muy escasa actividad o claras. El hecho más llamativo en las zonas en que se comprobó hipertrofia de los gliocitos capsulares es la actividad intensa en succinodehidrogenasa que hace que estos elementos contrasten sobre todo con las células o neuronas claras.

Estos ganglios con escasas neuronas aparecen rodeados de un halo de actividad correspondiente a los gliocitos hipertróficos.

La acetilcolinesterasa no muestra el aumento característico de actividad que se encontrara en los Hirschsprungs.

En el paciente N^o 10 la glucosa 6 fosfato dehidrogenasa permite encontrar neuronas del plexo de Meissner aparentemente indemnes.

DISCUSION

La patología del megacolon, de acuerdo a las últimas tendencias, es sobre todo la patología del sector neural del tubo digestivo. Recordaremos que las neuronas de los plexos de Auerbach y Meissner corresponden al parasimpático, cuyas fibras eferentes provienen fundamentalmente de los segmentos medulares sacros. Las fibras simpáticas tienen su última conexión en los ganglios prevertebrales y luego en la pared colónica. Terminan no sólo sobre los vasos y mucosa, sino que establecen sinapsis con las neuronas parasimpáticas de ambos plexos intestinales [Norberg, 1967 (20)].

Ambos sistemas regulan la motilidad intestinal y es su lesión la que lleva primero a trastornos funcionales más o menos severos, para terminar finalmente en el desarrollo del megacolon verdadero.

En otros casos, como en la enfermedad de Hirschsprung, se produciría un defecto en la migración de las neuronas, defecto que se agrava en los sectores innervados más tardíamente. Esos sectores, que son los caudales, mostrarían así, desde un hipoganglionismo hasta un aganglionismo más o menos extendido, lo que influiría en la precocidad y gravedad de la manifestación morbosa.

De los cuatro casos de enfermedad de Hirschsprung estudiados, uno de ellos, el caso N^o 1, resultó ser el más expresivo del punto de vista anatomopatológico, concordando en un todo con la descripción clásica de la misma. Mostró un aneuronismo del plexo de Auerbach en una extensión considerable del segmento distal, con hipoganglionismo y alteraciones marcadas de las neuronas remanentes en el segmento proximal.

El plexo de Meissner evidenció un hipoganglionismo.

La impregnación argéntica mostró el aumento de fibras nerviosas del plexo de Auerbach, hecho que ya señalara Bodian (5), atribuyéndolo a una proliferación reactiva al aganglionismo. En el sector hipogangliónico, las alteraciones neuronales eran notoriamente más marcadas a nivel del plexo de Auerbach, plexo fundamentalmente motor, mientras que las neuronas del plexo de Meissner, en zonas, estaban respetadas. Ese contraste se establecía muchas veces en el mismo campo microscópico, enfrentando una neurona del plexo submucoso, morfológica e histoquímicamente normal, a una neurona del plexo intermuscular con llamativas figuras de neuronofagia. Esta sensibilidad aparentemente mayor del plexo intermuscular frente a la noxa, no ha encontrado explicación satisfactoria hasta el momento actual.

Llamaron la atención, infiltrados eosinófilos a topografía perineural y perineuronal. Este tipo de exudado asentaba en zonas, sobre un tejido de granulación dotado de capilares de neoformación y actividad fibroblástica, evidenciada por deposición de elementos colágenos y elásticos.

En los tres casos restantes, si bien existían alteraciones neuronales no se pudo comprobar un aganglionismo sino un hipoganglionismo.

Los elementos inflamatorios observados eran discretos, predominando muchas veces en la submucosa sin mostrar una topografía preferencial perineuronal.

Los 6 casos de megacolon adquirido mostraron alteraciones neuronales diversas. Mientras las dos biopsias rectales (casos N^{os}. 9 y 10) revelaron un aganglionismo, en las piezas de resección se hizo evidente un hipoganglionismo notorio en el caso N^o 5, en tanto en los casos N^{os}. 6 y 7 predominaban las alteraciones neuronales cualitativas. En todos los casos estudiados, excepto en el N^o 8, las alteraciones cuali y cuantitativas predominaban netamente en el segmento rectal.

El exudado inflamatorio variaba en calidad y en cantidad, pero en general era difuso y predominaba muchas veces en la submucosa próxima a zonas de ulceración y trombosis vascular.

Evidentemente ese florido cuadro inflamatorio puede suponerse secundario a la lesión mucosa.

Las capas musculares estaban afectadas por una intensa miositis que llevaba ocasionalmente a la destrucción de las fibras

musculares (caso N^{os}. 6 y 7). En la biopsia correspondiente al caso N^o 9 una notable elastosis llegaba incluso a reemplazar la capa muscular (fig. 9).

Los fenómenos inflamatorios destructivos dejan como secuela a nivel de la capa muscular un proceso reparativo fibroelástico que puede desorganizarla parcialmente o llevar a un reemplazo zonal de la misma por tejido conjuntivo no contráctil.

El papel de estas lesiones como obstáculos a la peristalsis, es de suficiente importancia como para ser incluido en la génesis del proceso junto al hipo o aganglionismo.

En la biopsia correspondiente al caso N^o 10, en oposición a los demás, los elementos inflamatorios eran mínimos y generalmente localizados a la zona del plexo de Auerbach. La capa muscular era prácticamente normal. Podemos decir, en definitiva, que se bien los fenómenos inflamatorios y destructivos predominaban en la forma adquirida de la enfermedad, ello no siempre es así.

En los casos N^{os}. 5, 6, 7, 8, 9 y 10, se buscó infructuosamente la presencia de leishmanias. Esta búsqueda estaba especialmente justificada en los casos N^{os}. 5, 8, 9 y 10, por la positividad del test de Guerreiro Machado, y era sugerida en los casos N^{os}. 6 y 7 por proceder, los pacientes, de una zona endémica.

La histopatología de los casos N^{os}. 6 y 7, coincide llamativamente con la descripción que dieran Okumura y col.(22), de las lesiones chagásicas experimentales evolucionadas.

Toledo-Correa,(30) estudiando un megacolon procedente de zona endémica y con reacciones de Guerreiro Machado positivas, pudo objetivar de manera brillante un nido de leishmanias en las fibras musculares del mismo. Esta es la primera observación del parásito en un megacolon, de acuerdo a una exhaustiva compulsa bibliográfica realizada [Chambouleyron, 1966 (7), García de Meerhoff, 1967 (11)].

En cuanto a los estudios histoenzimológicos, la fosfatasa ácida, enzima contenida normalmente en gránulos o lisosomas, aumenta intensamente, distribuyéndose además en forma homogénea en las neuronas que sufren el proceso autolítico. Novikoff (1960) (21) ha insistido en el papel de las enzimas hidrolíticas en el proceso autodigestivo celular, como consecuencia de la desorganización de las membranas lisosomales. Dependiendo de la intensidad de la agresión, las enzimas difundirán al citoplasma tomándolo como sustrato (autólisis), o porciones alteradas de citoplasma pasarán en las agresiones menores al interior de los lisosomas que se agrandan llevando a la formación de citolisomas.

La reacción y aumento de la fosfatasa ácida en las neuronas lesionadas o privadas de sus prolongaciones, ha sido descrita experimentalmente, sobre todo en ganglios raquídeos y médula

espinal, por varios autores, pero en nuestro conocimiento es la primera vez que se describe en los plexos nerviosos periféricos.

La detección de la esterasa simple muestra variaciones similares relacionadas también a cambios metabólicos del lisosoma.

La tiaminopirofosfatasa proporciona imágenes del aparato de Golgi que podrían corresponder a la retidispersión de los clásicos, en las neuronas alteradas.

La detección de la succinodeshidrogenasa, enzima puramente mitocondrial, muestra variaciones perceptibles, disminuyendo marcadamente en las neuronas afectadas. Esta enzima mide indirectamente la capacidad oxidativa de la neurona y por ende su actividad "respiratoria".

La disminución de actividad o redistribución de la misma debe tomarse como otro signo de lesión neuronal, como ya lo demostró Klein (15) en los ganglios espinales. En contraste con esta disminución de la actividad de la neurona, se produce un aumento en la glía que se destaca netamente.

Schiffer y Vesco (1962) (26) y Friede (1962) (10) indican en las reacciones gliales frente a noxas que afectan a la neurona o noxas generales que actúan sobre la médula espinal y sistema nervioso central, un aumento de actividad en succinodehidrogenasa gliocitaria. Ellos sugieren que esto es producto de un cambio en la delicada interrelación oxidativa, existente entre la neurona y sus satélites gliales.

Este aumento de actividad enzimática de los gliocitos, acompaña la hipertrofia de los mismos, hipertrofia que coexiste con una marcada disminución del número de neuronas entéricas.

La actividad en glucosa-6-fosfato dehidrogenasa estaba localizada únicamente en las neuronas, glías y en las células epiteliales de la mucosa. Las neuronas eran dibujadas netamente incluyendo sus prolongaciones, por lo que además de las alteraciones de carácter histoquímico fue posible hacer una descripción morfológica.

La detección de adenosintrifosfatasa intensamente positiva en los gliocitos perineurales demuestra el aumento de actividad y de su número, hecho que en otras zonas del sistema nervioso fuera señalado experimentalmente por Barron y Tuncbay (1964) (3).

En cuanto a la fosfatasa alcalina, dibuja los capilares activos demostrando sus notables concentraciones en la parte superficial de la mucosa, así como su presencia y cercana relación con las neuronas de los plexos mientéricos.

La importante vinculación capilar-neurona, es un hecho abundantemente documentado en el sistema nervioso central y que evidentemente se mantiene en el territorio digestivo.

La acetilcolinesterasa aparece aumentada en los Hirschsprung, en neto contraste con las formas adquiridas. Este fenómeno fue

observado recientemente por Ruge (1968) (25), quien adelanta la hipótesis de que la espasticidad del segmento aganglionar produce una hiperplasia de la capa muscular con aumento de la actividad enzimática del parasimpático intramural. Para este autor este carácter permitiría distinguir entre las formas congénitas agangliónicas y las adquiridas.

Nuestras observaciones ponen en evidencia un plexo yuxtamucoso dependiente del plexo de Meissner, cuya actividad y grosor se reduce hasta casi desaparecer en aquellas zonas de hipotrofia de la mucosa por fecalomas. Ese plexo estaría encargado de la sensibilidad de la mucosa, regularía la secreción de las glándulas y la motilidad de la muscularis mucosa.

Las alteraciones del plexo de Meissner y secundariamente del plexo yuxtamucoso acetilcolinesterasa positivos producirían disminución de la sensibilidad intestinal comprobada en algunos pacientes en etapas avanzadas, alteración de la secreción de las glándulas mucosas y seguramente contribuyen a modificar la muscularis (hipertrofia).

Creemos que, por primera vez, ha sido puesta en evidencia la existencia de una rica innervación vascular, colinesterasa positiva, dependiente del plexo de Meissner. La posibilidad de que esta innervación proveniente de los plexos murales y no del simpático extraintestinal produzca cambios vasculares cuando los plexos son lesionados, puede ser de importancia en la fisiopatología del megacolon.

CONCLUSIONES

En resumen, el estudio histoquímico demostró su utilidad en dos sentidos fundamentales:

1) La detección de la actividad esterásica pone de manifiesto de manera brillante las células ganglionares que se destacan en el preparado permitiendo la revisión rápida y segura de los mismos.

El material a examinar se reduce, pues se pueden explorar correctamente cortes de hasta 100 micras de espesor. El aganglionismo es entonces fácil de confirmar, incluso cuando los sectores afectados son pequeños y resulta particularmente útil en casos de biopsias rectales.

2) El resto de las enzimas hace evidentes alteraciones neuronales mínimas y los cambios de la relación glia-neurona, sin traducción con las técnicas histológicas comunes.

La detección de las fosfatasa ácida revela siempre sufrimiento neuronal agudo con posible muerte celular. Tanto en el Hirsch-

sprung como en el megacolon adquirido, la muerte neuronal y la despoblación de los ganglios sería un fenómeno progresivo y de variable rapidez.

Si bien las detecciones enzimáticas que hemos realizado han proporcionado datos muy útiles sobre el estado de los plexos nerviosos, la capa muscular no ha sido muy expresiva a la luz de estas técnicas. Creemos, sin embargo, que la investigación de algunas enzimas claves, como por ejemplo la fosforilasa, proporcionarían datos de sumo interés sobre las mismas.

Se pudieron evidenciar algunas de estas modificaciones mediante las técnicas convencionales que mostraron en los casos de megacolon adquirido procesos inflamatorios con grave destrucción muscular en pacientes con reacciones serológicas positivas para la enfermedad de Chagas. Köberle (16, 17) encuentra en los megacolon de estos pacientes, un proceso de miositis intersticial debido a la parasitación por leishmanias que al abandonar el foco eliminarían una sustancia neurotóxica que lesionaría los plexos.

Creemos que las lesiones musculares cuando son de tal magnitud, deben ser tenidas muy en cuenta en la génesis del proceso patológico, y su incidencia sobre el desarrollo y evolución de la enfermedad megacolon es obvia, pues aunque el plexo mientérico estuviera hipotéticamente indemne, estaría privado de su efector.

En los casos de megacolon congénito y adquirido, el estudio histopatológico objetiva siempre lesiones neuronales y plexulares más o menos marcadas. En la enfermedad de Hirschsprung se topografían en la zona distal rectosigmoidea estrechada espástica, siendo la dilatación del colon una manifestación secundaria a la misma (plexos nerviosos normales a ese nivel). En el megacolon adquirido son difusas y asientan a nivel del área dilatada que sería la verdaderamente enferma.

Esto ha hecho afirmar a Köberle (17) que el término megacolon debería usarse sólo en los casos en los cuales la causa del proceso se encuentra en la porción dilatada. El megacolon congénito no sería un verdadero megacolon, sino una manifestación secundaria a la lesión distal característica de dicha enfermedad.

En definitiva, a nivel microscópico el diagnóstico diferencial entre enfermedad de Hirschsprung a posible manifestación tardía y megacolon adquirido, puede ser muy difícil en algunos casos. Distintos elementos pueden orientar, sin embargo, al patólogo en uno u otro sentido, pero ninguno de ellos es terminante. Los elementos inflamatorios en la enfermedad de Hirschsprung son moderados y con tendencia a focalizarse en las zonas correspondientes a los plexos nerviosos. Las lesiones neuronales predominan en el segmento distal. En el megacolon adquirido el

proceso inflamatorio es exuberante y generalmente difuso. Las lesiones neuronales presentan también este último carácter, siendo excepcional el aganglionismo total.

A nivel histoquímico el aumento de actividad acetilcolinésergica en el Hirschsprung debe ser tenido en cuenta.

En el caso del megacolon chagásico el hallazgo del agente, realizado por primera vez por Toledo-Correa (30), es el elemento definitivo de diagnóstico etiológico.

BIBLIOGRAFIA

1. AGUILERA MISTRAL, V.; GONZALEZ LETELIER, R. y MUÑOZ, N.—Megacolon del adulto; experiencia. "Congr. Latinoamer. Proctol., I", 1: 278-93; S. Paulo, 1960.
2. BARKA, T. and ANDERSON, P. J.—"Histochemistry: theory, practice and bibliography". London, Harper, 1963. 350 p.
3. BARRON, K. D. and TUNCBAV, T. O.—Phosphatase histochemistry of feline cervical spinal cord after brachial plexectomy. "J. Neuropath. Exp. Neurol.", 23: 368-386; 1964.
4. BENTLEY, J. F. R.—Some new observations on megacolon in infancy and childhood with special reference to the management of megasigmoid and megarectum. "Dis. Colon Rectum", 7: 462-70; 1964.
5. BODIAN, M.; CARTER, C. O. and WARD, B. C. H.—Hirschsprug's disease with radiological observations. "Lancet", 1: 302-9; 1951.
6. CAMERON, A.—Citado por Roviralta, E.
7. CHAMBOULEYRON, E. J.—Megacolon en el adulto. "Congr. argent. cir.", 37º, 1: 145-239; Buenos Aires, 1966.
8. DALLA VALLE, A.—Familiar megacolon. "Pediatria" (Napoli), 3º: 569-99; 1924.
9. EHRENPREIS, T.—Megacolon in the newborn; a clinical and roentgenological study with special regard to the pathogenesis. "Acta Chir. Scand.", 94: supp. 112; 1946.
10. FRIEDES, R. L.—The cytochemistry of normal and reactive astrocytes. "J. Neuropath. Exp. Neurol.", 21: 471-8; 1962.
11. GARCIA DE MEERHOFF, N.—"Megacolon. Adelantos en los métodos de diagnóstico y su aplicación terapéutica". Facultad de Medicina, Montevideo. Tesis de Doctorado, 1967.
12. GOMEZ GOTUZZO, F.—2Megacolon y sus complicaciones. "Congr. Urug. Proctol., I", 3: 1068-81, 1963.
13. GOMEZ GOTUZZO, F.—Megacolon del adulto. Ver Relato en este mismo Congreso. "Congr. Urug. Cir.", 19º. Montevideo, 1968.
14. HOLT, S. J. and HICKS, R. M.—Studies on formalin fixation for electron microscopy and cytochemical staining purposes. "J. Biophys. Biochem. Cytol.", 11: 31-45; 1961.

15. KLEIN, H.—Der Nachweis einer oxydativen Stoffwechselsteigerung in der primär gereizten Spinalganglienzelle der Bernsteinsäuredehydrogenase. "Arch. Psychiat. Nervenkr.", 201: 81-90; 1960.
16. KÖBERLE, F.—Patologia do megacolo adquirido. "Congr. Latinoamer. Proctol, I", 1: 269-77; 1960.
17. KÖBERLE, F.—"The Journal of Trop. Med. and Hyg.", 61: 21-25; 1958.
18. LAURENCE, G.—Phisiopathologie de la maladie de Hirschsprung (dys-tonic aganglionaire). "Rev. Prat. (Paris)", 9: 3423-32; 1959.
19. LEE, C. M. (Jr.).—Megacolon with particular reference to Hirschsprung disease. "Surgery", 37: 762-77; 1955.
20. NORBERG, K. A.—Transmitter histochemistry of the sympathetic adrenergic nervous system. "Brain Research", 5: 125-170; 1967.
- NOVIKOFF, A. BB.—"Biochemical staining reactions of cytoplasmic constituents. (En Rudnick, D. (ed.): Development of cell systems and their control. "Symposium of the Society for the study, development and growth, 18th". New York, Ronald, 1960. 240 p.
- OKUMURA, M.; BRITO, T. DE y otros. A patologia da molesta de Chagas experimental no camundongo branco. Alterações do tubo digestivo, mormente a aterite necrotizante. "Congr. Latinoamer. Proctol. I", 2: 830; S. Paulo, 1960.
23. REZENDE, J. MARCONDES DE.—Etiopatogenia do megacolo adquirido. "Congr. Latinoamer. Proctol, I", 1: 259-68, S. Paulo, 1960.
- ROVIRALTA, E.—"Le megacolon congenital: diagnostic et traitement". Paris, Masson, 1962. 136 p.
- RUGE, M. W.—Das megacolon Seine Diagnose und Pathophysiologie. "Virchows Arch. Abt. A. Path. Anat.", 344: 67-85; 1968.
- SCHIFFER, D. and VESCO, C.—Histochemical observations about the pattern of tetrazolium reduction, with different substrates in glia cells of normal and pathological human nervous tissue. "J. Histochem. Cytochem.", 11: 335-41; 1963.
- SWENSON, O.—Follow up on 200 patients treated for Hirschsprung disease during a ten-year period. "Ann. Surg.", 146: 706-14; 1957.
- and DAVIDSON, F. Z.—Similarities of mechanical intestinal obstruction and aganglionic megacolon in the newborn infant. A review of 64 cases. "New Engl. J. Med.", 262: 64-7; 1960.
- SWENSON and Mac MAHON, E.—Rectal biopsy as an aid in the diagnosis of Hirschsprungs disease. "New Engl. J. Med.", 253: 832-5; 1955.
30. TOLEDO-CORREA, N.—"Anatomía patológica del megacolon del adulto". Ver Correlato en este mismo Congreso.
31. ZIEGLER, E.—"Pathologische Anatomie", II ed. Jena. Fischer, 2: 607-8; 1906.