



Universidad
Zaragoza

Trabajo Fin de Grado

**Implicación de las Células Intersticiales de Cajal en
la fisiopatología gástrica**

**Implication of Interstitial Cells of Cajal in gastric
pathophysiology**

Autora:

Beatriz Álvarez Padilla

Directora:

Laura López Pingarrón

Universidad de Zaragoza

Facultad de Medicina

Departamento de Farmacología y Fisiología

Curso académico: 2018-2019

INDICE

1. Resumen	2
2. Abstract	3
3. Objetivos	4
4. Material y métodos	5
5. Introducción	6
5.1 Sistema nervioso entérico (SNE)	6
5.2 Células intersticiales de Cajal en el sistema nervioso entérico	8
5.2.1. Origen y expresión del c-kit	8
5.2.2. Morfología	10
5.2.3. Localización	12
5.2.4. Funciones	14
5.2.4.1. Marcapasos	14
5.2.4.2. Mecanorrecepción	16
5.2.4.3. Neurotransmisión entérica	18
6. Fisiología y alteraciones funcionales de las ICC en el tracto gastrointestinal	20
6.1. Fisiología de la motilidad gastrointestinal	20
6.2. Alteraciones funcionales de las ICC en el tracto gastrointestinal	22
7. Patología gástrica	24
7.1. Papel de las ICC en la gastroparesia diabética	25
7.2. Terapia insulínica	26
8. Discusión	28
I. Funciones de las ICC en la motilidad gástrica	28
II. Alteraciones funcionales de las ICC en la motilidad gástrica	33
9. Conclusiones	38
10. Bibliografía	40

1.RESUMEN

Las células intersticiales de Cajal (ICC) fueron descritas por Santiago Ramón y Cajal y las relacionó con los plexos del sistema nervioso entérico. Se clasifican en distintos subtipos en relación con su localización, morfología y funciones. Además de su actuación como células marcapasos en el tracto gastrointestinal y su función de mecanorreceptor, tienen un papel fundamental en la neurotransmisión entérica al transmitir potenciales de acción de las fibras nerviosas entéricas a las células musculares lisas de la pared intestinal.

Las alteraciones en la motilidad gastrointestinal están relacionadas con una disminución en el número de las ICC o déficit del receptor c-kit, expresado en la membrana de las ICC, las cuales están implicadas en enfermedades digestivas tales como la acalasia, pseudoobstrucción intestinal, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad de Hirschprung, tumores del estroma gastrointestinal (GIST), gastropatía diabética. Esta última se ha relacionado con una disminución de la enzima antioxidante hemooxigenasa-1 (HO-1) provocando una reducción de las ICC, y de la óxido nítrico sintasa (nNOS) lo que conlleva a un enlentecimiento del vaciamiento gástrico. Por ello, la disminución o lesión de las redes de ICC en los pacientes diabéticos puede contribuir a generar la gastropatía diabética caracterizada por presentar anomalías en el peristaltismo gástrico.

Palabras clave

Células intersticiales de Cajal, sistema nervioso entérico, gen c-kit, células marcapasos, neurotransmisión entérica, motilidad gástrica, gastropatía diabética, insulina.

2. ABSTRACT

Interstitial cells of Cajal (ICC) were described by Santiago Ramón y Cajal and they are related to the plexuses of the enteric nervous system. They are classified into different subtypes in relation to their location, morphology and functions. In addition to their role as pacemaker cells in the gastrointestinal tract and their mechanoreceptor function, they play an important role in enteric neurotransmission by transmitting action potentials of enteric nerve fibers to the smooth muscle cells of the intestinal wall.

Alterations in gastrointestinal motility are related to a decrease in the number of ICC or c-kit receptor deficiency, that is expressed in the membrane of ICC which are involved in digestive diseases such as achalasia, intestinal pseudoobstruction, inflammatory intestinal disease, gastrointestinal stromal tumors (GIST), diabetic gastropathy. The latter has been related to a decrease of antioxidant enzyme hemoxygenase-1 (HO-1) causing a reduction of ICC, and nitric oxide synthase (nNOS) which leads to a delayed gastric emptying. Therefore, the depletion or injury of ICC networks in diabetic patients can contribute to the generation of diabetic gastropathy characterized by abnormalities in gastric peristalsis.

Key words

Interstitial cells of Cajal, enteric nervous system, c-kit gen, pacemaker cells, enteric neurotransmission, gastric motility, diabetic gastropathy, insulin.

3. OBJETIVOS

Primero: Estudiar el origen, morfología, localización y funciones de las células intersticiales de Cajal en el sistema nervioso entérico.

Segundo: Analizar la función de neurotransmisión entérica y marcapasos de las ICC en condiciones normales para poder valorar su implicación en trastornos de la motilidad gastrointestinal.

Tercero: Revisar el papel que desempeñan las ICC en los mecanismos fisiológicos de la motilidad gástrica, así como en la fisiopatología de la gastroparesia diabética.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de un trabajo de revisión acerca de la fisiología de las ICC y su intervención en la gastroparesia diabética.

Para desarrollar este trabajo se ha realizado la revisión y análisis de la bibliografía existente en las bases de datos Pubmed, Tripdatabase y Cochrane. También se han recopilado distintos estudios de los últimos años y se ha analizado información a partir de buscadores científicos como google académico y páginas web como IntraMed. Las palabras clave utilizadas en el trabajo para la búsqueda de información han sido Células intersticiales de Cajal, sistema nervioso entérico, gen c-kit, células marcapasos, neurotransmisión entérica, gastropatía diabética, insulina.

En total se han realizado 47 búsquedas de las cuales 32 han sido artículos de revisión, 9 artículos de investigación, 1 artículo de descripción de un caso, 1 informe de oncología y 4 búsquedas en libros electrónicos. Del total de artículos consultados se han seleccionado para este trabajo 26 artículos de revisión, 7 artículos de investigación, 1 artículo de descripción de un caso, 1 informe de oncología y 4 búsquedas en libros electrónicos. Para analizar la implicación de las ICC en el sistema nervioso entérico, así como su origen, morfología y localización se han revisado 17 artículos. Para profundizar en sus funciones se han consultado 16 artículos. Por último, para relacionar las ICC con patologías del tracto gastrointestinal así como la implicación del c-kit en las mismas se han revisado 19 artículos.

El objetivo principal de este trabajo ha sido estudiar la fisiología de las ICC para valorar su intervención en la gastroparesia diabética fundamentalmente.

5.INTRODUCCIÓN

5.1. SISTEMA NERVIOSO ENTÉRICO (SNE)

El sistema nervioso tiene como principal función percibir los estímulos internos y externos y analizar esta información sensorial generando respuestas motoras. Se divide en dos subsistemas: el sistema nervioso central (SNC), formado por encéfalo y médula espinal, y el sistema nervioso periférico (SNP). Éste presenta, a su vez, dos divisiones: sistema nervioso somático (sensitivo y motor) que regula las funciones voluntarias o conscientes en el organismo, y sistema nervioso autónomo, también llamado sistema nervioso vegetativo o sistema nervioso visceral, que controla las funciones involuntarias de las vísceras. A su vez, el sistema vegetativo se clasifica en simpático y parasimpático cuyas funciones son antagónicas mayoritariamente; y el sistema nervioso entérico (SNE) cuyas fibras se distribuyen en el tracto gastrointestinal y tiene una función importante en el control de la motilidad gastrointestinal (Carlson B.M, 2017).

El SNE se origina en las células de la cresta neural y está formado por gran cantidad de neuronas y células gliales que se agrupan en los ganglios situados en dos plexos nerviosos: el plexo submucoso y el plexo mientérico (figura 1). *El plexo submucoso de Meissner*, situado entre la capa muscular circular y la submucosa, está más desarrollado en el intestino delgado y colon, y su función principal es la regulación de la digestión y absorción del intestino. *El plexo mientérico de Auerbach*, situado entre las capas musculares, circular y longitudinal, a lo largo del tubo digestivo, tiene como función principal la coordinación de la actividad peristáltica de las capas musculares. Estos plexos están constituidos por una red organizada de neuronas (neuronas aferentes intrínsecas primarias, neuronas motoras, interneuronas, neuronas intestinofugas), que junto con las células intersticiales de Cajal, originan la motilidad gastrointestinal.

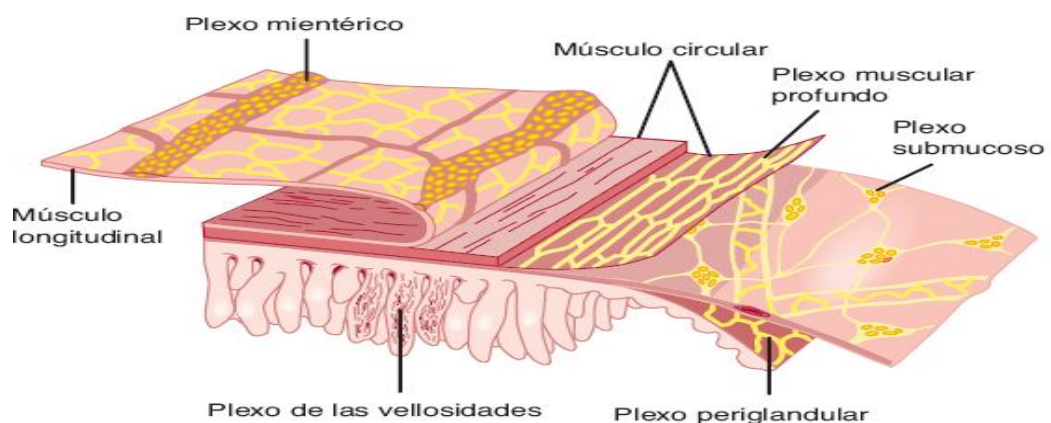


Figura 1. Localización de los plexos de Meissner y Auerbach (Furness y Costa, 1980).

Las neuronas aferentes intrínsecas primarias (NAIP) son neuronas colinérgicas que se encargan de regular la actividad gastrointestinal al responder a estímulos mecánicos y químicos; es decir, su actividad es principalmente la de transductores sensoriales, regulando las funciones fisiológicas del tubo digestivo. Las neuronas motoras que inervan las capas musculares del tubo digestivo, vasos sanguíneos y glándulas, pueden ser excitatorias (utilizan como neurotransmisores acetilcolina, taquicinas) e inhibitorias (neurotransmisión mediada por NO, VIP, GABA, ATP, CO). Las interneuronas integran la información generada por las neuronas aferentes intrínsecas primarias y la envían a las motoneuronas. Por último, las neuronas intestino-fugas son mecanorreceptoras que envían prolongaciones fuera del tubo digestivo, y establecen sinapsis con los ganglios mesentéricos superior e inferior y el ganglio celiaco, formando el ganglio prevertebral (Romero-Trujillo J.O. y cols., 2012).

Aunque la mayor parte de las funciones intestinales pueden ser desarrolladas por el SNE de forma independiente del SNC, existe una conexión bidireccional entre ambos sistemas, siendo el SNC el que suele influir en el funcionamiento entérico al crear conexiones, aferentes y eferentes. De hecho el 90% de las fibras vagales que parten del intestino son aferentes al cerebro, lo que sugiere que, en esta comunicación, el cerebro es más receptor que transmisor. Algunas de las señales recibidas transmiten información acerca del estado fisiológico de los órganos digestivos y provocan los reflejos vagales (saciedad, náusea). Por otra parte, la masticación y la deglución dependen del SNC, el que inerva al músculo estriado esofágico, respondiendo éste a los reflejos vagales. Estos reflejos también controlan la motilidad y la secreción gástrica, a diferencia de los movimientos del intestino delgado y grueso que están controlados únicamente por el SNE, por lo que si se perdieran las conexiones con el SNC la motilidad en estas regiones intestinales no se vería afectada.

Las principales funciones del SNE son determinar los patrones de movimiento del tracto gastrointestinal, controlar la secreción del ácido gástrico, regular la absorción de nutrientes, modificar el flujo sanguíneo e interactuar con el sistema inmunitario y endocrino intestinal.

Un funcionamiento alterado de este sistema, además de afectar a las funciones descritas anteriormente, se relaciona sobre todo con neuropatías que dificultan el control de la actividad muscular y la progresión del contenido intestinal a lo largo del tubo digestivo (Furness J.B, 2006).

5.2. CÉLULAS INTERSTICIALES DE CAJAL EN EL SISTEMA NERVIOSO ENTÉRICO

Las células intersticiales de Cajal (ICC) fueron descritas por primera vez por el neuropatólogo español Santiago Ramón y Cajal, quien las definió como “una red de células con cuerpos fusiformes y largas prolongaciones anastomosadas entre las capas musculares longitudinal y circular de la pared intestinal” (figura 2), que tienen diferentes características en función de la región del intestino en la que se encuentren (Cajal, 1888).

5.2.1. Origen y expresión del c-kit

Desde su descubrimiento por Cajal en 1888 (Cajal, 1888), las ICC han generado una gran controversia en la comunidad científica. Si su naturaleza es de origen nervioso, muscular o fibroblástico, así como su función sigue siendo aún tema de debate, desde hace más de cien años. Cajal y sus colaboradores las definieron como neuronas, mientras que algunos histólogos contemporáneos, como Kolliker y Dogiel las clasificaron como fibroblastos (Dogiel, 1895; Kolliger, 1896). Posteriormente, se demostró en varios estudios su papel fundamental en el origen del peristaltismo de onda lenta y su participación en la neurotransmisión (Ebner V, 1889; Huber O, 1897; Heidenhain M, 1911).

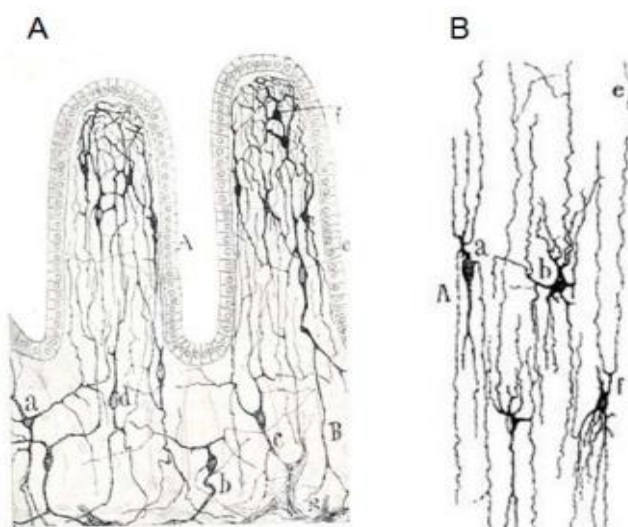


Figura 2. Dibujos de Cajal sobre las ICC. A) Células de Cajal (a-f) en las vellosidades intestinales (Cajal, 1893). B) ICC en el plexo muscular profundo (Cajal, 1911).

El avance más importante tuvo lugar cuando se descubrió la relación de las ICC con el receptor tirosín quinasa c-kit, lo que permitió distinguir estas células de otros tipos celulares con características morfológicas similares. La detección de la expresión de c-kit confirmó que las ICC no proceden de la cresta neural, sino del mesénquima (Al-Shboul O., 2013; Yazigi G., 2006). Por otra parte, se demostró la relación de las células de Cajal con las células musculares lisas que tienen un origen común mesodérmico.

Además, cabe destacar que determinadas ICC podrían tener un origen neuronal tal y como afirmaba Cajal, ya que las ICC de la capa muscular circular se originan de células que emergen del tubo neural ventral (García Lopez P. y cols., 2009; Al-Shboul O., 2013).

Expresión de c-kit

El gen c-kit (CD117), localizado en el locus white spotting (W) del brazo largo del cromosoma 4 (q12) en humanos, es un protooncogen que codifica una proteína glucosilada con actividad tirosinquinasa, la proteína kit, la cual presenta un dominio extracelular donde se une a su ligando (factor de células madre), un dominio transmembrana y un dominio yuxtamembrana intracelular donde se une al ATP (d'Auriol L. y cols., 1988). En condiciones normales, la proteína kit se activa cuando se une a su ligando y se produce la dimerización del receptor provocando la autofosforilación de los dominios tirosinquinasa. Estos dominios fosforilados interactúan con las proteínas plasmáticas iniciando la transducción de señales.

Las células intersticiales de Cajal expresan el protooncogén c-kit. Por lo tanto, los anticuerpos contra c-kit son útiles para la identificación de las ICC. También su activación por el factor de células madre es esencial para la supervivencia y la actividad de marcapasos de ICC. Además de la relación de c-kit con el desarrollo y función de las ICC, también se ha demostrado en diversos estudios que este receptor y su ligando desempeñan un papel importante en la hematopoyesis, melanogénesis, gametogénesis y desarrollo de mastocitos (Romert P. y cols., 1998). Por ello, las mutaciones en el c-kit, conocidas como mutaciones W por su localización en el locus W (white spotting), afectan al desarrollo de todas las células nombradas anteriormente (Rohyun S. y cols., 2011)

Es posible que la deficiencia de c-kit provoque otras anomalías celulares, además de la pérdida de ICC. Por lo tanto, algunas de las anomalías observadas en los modelos de déficit de c-kit no deben atribuirse a la pérdida de ICC, sino a los efectos de la deficiencia de c-kit en los nervios entéricos y las células musculares lisas (Goyal R. y cols., 2009).

Además, la aplicación del anticuerpo c-kit (CD117) en los procedimientos inmunohistoquímicos de rutina en la diferenciación de los tumores del estroma digestivo supone un gran avance para el diagnóstico de estas lesiones (Sarlomo-Rikala M. y cols., 1998; Strickland L. y cols., 2001).

5.2.2. Morfología

5.2.2.1. Ultraestructura (microscopía electrónica)

En la actualidad, las ICC se pueden distinguir de otros tipos celulares con los que se habían confundido como son las células de Schwann, macrófagos, neuronas, células musculares lisas y fibroblastos. Sin embargo existe una “zona gris” en la que es difícil su distinción. Por ello, para facilitar el reconocimiento de las ICC se ha utilizado el microscopio electrónico de transmisión (MET) como técnica definitiva para su identificación (figura 3).

Las ICC típicas tienen un cuerpo celular alargado y múltiples prolongaciones. Estas **prolongaciones** son estrechas, redondeadas o aplanadas con filamentos delgados, intermedios y gran cantidad de microtúbulos a lo largo de su eje principal presentando conexiones con otras ICC, fibras nerviosas, células musculares lisas y macrófagos. Las ICC presentan una **lámina basal** a menudo incompleta que se puede teñir. Algunos aditivos para el fijador de aldehído (ácido tánico o rojo de rutenio) pueden teñir esta lámina distinguiéndose una lámina más gruesa y continua en el músculo liso y ausencia de lámina basal en fibroblastos. Esta lámina basal está en estrecha relación con la elastina y una cápsula gruesa de colágeno que puede cubrir estas células. Su **membrana plasmática** presenta abundantes caveolas y escasas invaginaciones. El **núcleo** es ovalado con uno o más nucléolos y cromatina condensada en su mayoría periférica. El **citoplasma** se caracteriza por numerosas mitocondrias largas presentes en todo su espesor que se acumulan en el inicio de las prolongaciones. Hay una escasez de ribosomas y cisternas del retículo endoplásmico rugoso. Poseen una rica red de cisternas interconectadas de retículo endoplásmico liso. Su aparato de Golgi y lisosomas están presentes, pero son discretos. Tienen, asimismo, un contenido variable de glucógeno y las gotas lipídicas, a menudo, presentes (Faussonne-Pellegrini M.S, 1999; Yazigi G., 2006).

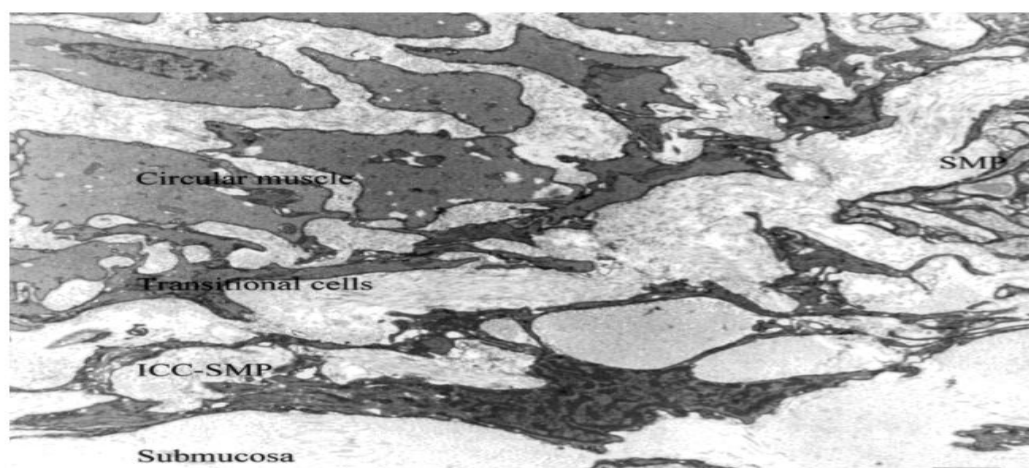


Figura 3. Imagen de microscopía electrónica donde se observa la conexión entre la ICC-SMP y la capa muscular circular mediada por una fina capa de células transicionales de músculo liso (Faussonne-Pellegrini M.S, 1999).

5.2.2.2. Marcaje con CD117/c-kit (microscopía óptica)

Varios estudios inmunohistoquímicos han confirmado la expresión en humanos del receptor c-kit en la muscular externa del intestino delgado y grueso. Desde hace años, se conoce la relación entre mastocitos y c-kit, sin embargo actualmente se ha demostrado, en diversas investigaciones, que las ICC también expresan este receptor. Por lo tanto, los criterios para su distinción dependen de su morfología, localización y organización.

Usando el método de inmunotinción doble (anti-c-kit seguido de anti-triptasa), las células redondeadas reactivas de c-kit presentan doble tinción (o al menos tinción de anti-triptasa) lo que indica que las células redondeadas son mastocitos. Además, si se hace tinción con azul de toluidina, los mastocitos presentarán gránulos en su citoplasma, dato característico para su identificación. Las ICC, en cambio, tienen una morfología estrellada con muchas prolongaciones que parece que abrazan a los cuerpos celulares de las células ganglionares y musculares lisas formando conexiones (figura 4). Estas células intersticiales inmunorreactivas se presentan en gran cantidad entre la capa circular y longitudinal de la muscular externa. Cabe destacar que con los métodos anti-c-kit aplicados, las ICC y los mastocitos mostraron la misma intensidad de tinción (Romert P. y cols., 1998).

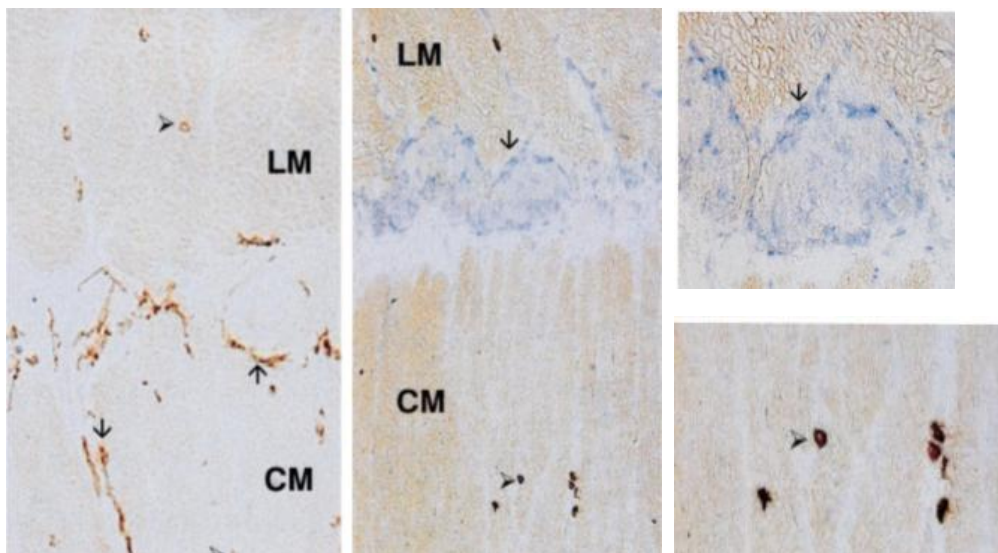


Figura 4. ICC y mastocitos en la muscular externa en yeyuno. ICC (flechas) y mastocitos (punta de flecha) (Fausone-Pellegrini M.S, 1999).

5.2.3. Localización

Las ICC se han encontrado en todo el tracto gastrointestinal en el ser humano, desde el esófago hasta el esfínter interno del ano (Rohyun S. y cols., 2011). Para su clasificación se han utilizado diferentes criterios según su localización en las distintas capas del tubo digestivo (submucosa, intramuscular, mientérica, subserosa), según su morfología (estrellada, bipolar) o según su función (marcapasos, mecanorreceptora, neurotransmisora). Además, determinados estudios han demostrado una relación entre las características morfológicas y funcionales y su localización (Radenkovic G. y cols., 2017). Estas células muestran diferentes características morfológicas y funcionales en función de su localización en el tubo digestivo, de tal forma que de acuerdo a estos criterios se pueden diferenciar en subtipos (figura 5): ICC-MP (plexo mientérico), ICC-DMP (plexo muscular profundo), ICC-IM (capa intramuscular), ICC-SM (capa submucosa), ICC-SMP (plexo submucoso) e ICC-SS (capa serosa) (Yazigi G, 2006; Huizinga J.D, 2018).

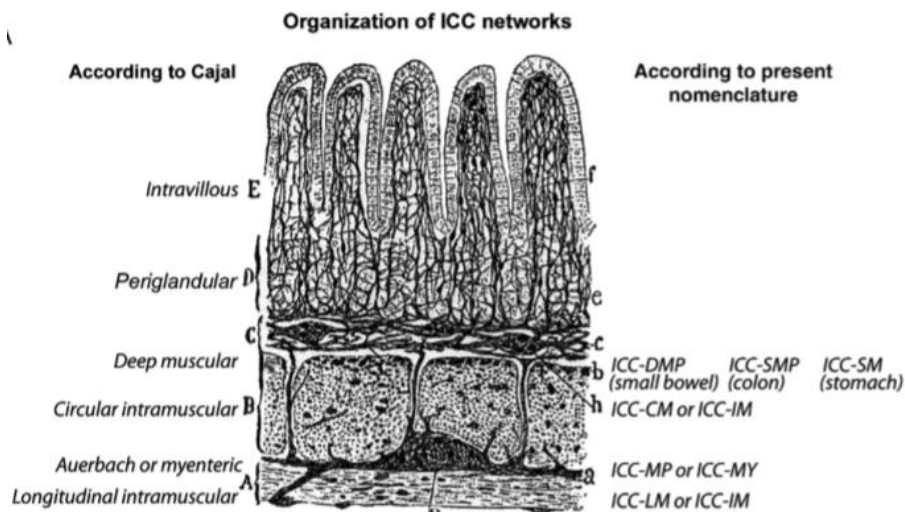


Figura 5. Localización de los diferentes subtipos de ICC de una sección longitudinal de intestino delgado de conejillo de Indias teñido por el método de Golgi: a) las ICC-MP asociadas al plexo mientérico; b) las ICC-DMP relacionadas con el plexo muscular profundo del intestino delgado; c) las ICC-IM de la capa intramuscular; d) las ICC-SM e ICC-SMP en relación con la submucosa y el plexo submucoso del colon y el antro; e) las ICC-SS de la capa subserosa del colon (Cajal, 1899).

- a) Las **ICC-MP**, asociadas al plexo mientérico, localizadas entre las capas musculares circular y longitudinal de la región mientérica. Son células con cuerpo en forma estrellada con gran núcleo y extenso citoplasma cuyas prolongaciones se extienden en todas las direcciones, conectadas entre sí mediante uniones tipo gap (Yazigi G, 2006). Además, son células ricas en mitocondrias, probablemente relacionadas con su actividad marcapasos, y ricas en caveolas relacionadas con el manejo del calcio.

- Desempeñan un papel fundamental como marcapasos primario en el estómago e intestino delgado y como marcapasos secundario en el colon (Huizinga J.D, 2018).
- b) Las **ICC-DMP**, asociadas al plexo muscular profundo del intestino delgado, se sitúan entre la porción más interna y externa de las células musculares circulares en el intestino delgado (Yazigi G, 2006). Son células bipolares que se extienden a lo largo de las células vecinas de la capa muscular circular contactando con los haces nerviosos y las células musculares a través de uniones tipo gap. Se cree que estas células juegan un papel como marcapasos secundario en el intestino delgado, en el que un estímulo puede provocar repolarizaciones rítmicas que interactuarán con el marcapasos primario generando respuestas motoras.
 - c) Las **ICC-IM**, de la capa intramuscular, se encuentran en la capa muscular circular y longitudinal, sobre todo, en esófago, estómago y colon, directamente innervada por neuronas entéricas efectoras que propagan la onda de activación. Son células bipolares con prolongaciones largas que conectan con las células musculares lisas adyacentes a través de uniones gap y con los terminales nerviosos mediante sinapsis. Las ICC-IM conectan con las ICC-MP y facilitan el paso de la actividad del marcapasos a la capa muscular circular. Además presentan conexiones con los receptores y fibras aferentes vagales. Por ello, la estimulación vagal de las ICC-IM en el estómago puede inducir la actividad marcapasos en estas células que se vuelve dominante sobre la actividad primaria de marcapasos de las ICC-MP, por tanto monitoriza la actividad del músculo liso y la modifica a través de sus interacciones con los nervios entéricos.
 - d) Las **ICC-SM**, asociadas a la capa submucosa, e **ICC-SMP**, asociadas al plexo submucoso del colon, que se localizan, las primeras en la submucosa y las segundas entre la submucosa y la capa circular muscular. Son células multipolares con pocas prolongaciones secundarias que interactúan entre sí y con las ICC-IM formando una red continua de células marcapasos presente en todo el colon. Son las principales responsables de generar ondas lentas en el colon y las ICC-MP actúan como marcapasos secundario.
 - e) Las **ICC-SS**, de la capa serosa del colon, localizadas en el tejido conectivo de la capa serosa. Son células poco numerosas que interactúan con fibras nerviosas y células musculares lisas sugiriendo que fueran receptores de estiramiento y podrían provocar contracciones del músculo longitudinal (Huizinga J.D, 2018).

5.2.4. Funciones

Las principales funciones de las células intersticiales de Cajal son: su intervención como células marcapasos en la actividad contráctil espontánea de la musculatura intestinal; su acción como mecanorreceptores; y su actuación como mediadoras de la neurotransmisión colinérgica y nitrérgica.

5.2.4.1. Marcapasos

Hace años, se observó que las despolarizaciones eléctricas espontáneas de la musculatura gastrointestinal se originaban en zonas concretas de la capa muscular (Yazigi R, 2006). La idea original era que estas despolarizaciones eran provocadas por las células musculares lisas, pero su estudio aislado ha demostrado que éstas son incapaces de generar actividad eléctrica espontánea. Por otra parte, se vio que estas ondas eran mayores cerca del borde submucoso del colon o en la región mientérica, a nivel de la musculatura circular del estómago y del intestino delgado. En estas regiones, se observó la presencia de una red de células interconectadas que podían tener relación con esas despolarizaciones, las células intersticiales de Cajal (Sanders K, 2007).

La primera sugerencia de la actuación de las ICC como marcapasos la hizo Arthur Keith quien descubrió la función de marcapasos del nodo sinoauricular y consideró que en la unión gastroesofágica existe un centro nodal principal en el que se inician las contracciones rítmicas del estómago (Keith A, 1915). Ambache fue el primero en demostrar que las ondas lentas eléctricas controlaban las contracciones intestinales y en relacionar estas ondas con las ICC (Ambache, 1947). Las ondas lentas tienen dos componentes: una despolarización transitoria inicial, que es el componente primario, seguida de una despolarización lenta en forma de meseta. Por otra parte, los potenciales marcapasos tienen una fase ascendente rápida (componente primario) seguida de un componente meseta con una amplitud decreciente (figura 6) (Kito Y y cols., 2003).

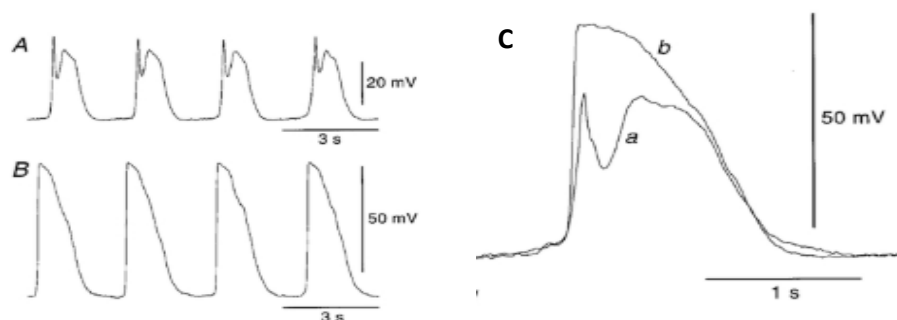


Figura 6. Ondas lentas y potenciales marcapasos del intestino delgado de un ratón. A) Ondas lentas. B) Potenciales marcapasos. C) Ondas lentas y potenciales marcapasos superpuestos (Kito Y y cols., 2003).

Las ondas lentas no son potenciales de acción, sino que son cambios ondulatorios en el potencial de membrana en reposo. Aunque no producen contracción, sí que regulan la aparición de potenciales en espiga que son los verdaderos potenciales de acción que inician la contracción muscular (figura 7). Sin embargo, no todas las ondas lentas tienen potenciales de acción en espiga. La actividad de despolarización en espigas parece ocurrir como consecuencia del aumento de la conductancia de la membrana para el calcio. El origen de este potencial eléctrico del músculo gastrointestinal podría deberse a las interacciones entre las células musculares lisas y las células intersticiales de Cajal, que actúan como marcapasos para las células musculares (Hall J, 2013).

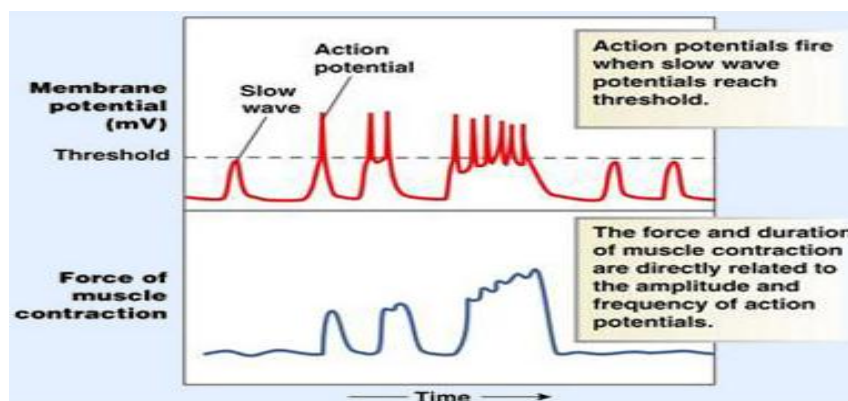


Figura 7. Ondas lentas y potenciales de espiga (Hall J, 2013).

Las ICC-MP son la principal fuente de potenciales marcapasos en el intestino delgado y el estómago. Las ICC-IM también pueden generar actividad marcapasos, pero lo hacen a una frecuencia más baja que las ICC del plexo mientérico, y normalmente funcionan para soportar la generación de ondas lentas en áreas donde la densidad de ICC-MP es baja (Hirst D y cols., 2004). Por el contrario, en el colon el potencial marcapasos reside en las ICC del plexo submucoso. A nivel del estómago, el vago tiene una gran influencia en la motilidad del gástrica induciendo la relajación al llenarse el estómago. Las fibras vagales terminan en las ICC-IM, por lo que la estimulación vagal aumenta la frecuencia de ondas lentas en las ICC-IM convirtiéndose en los marcapasos principales del estómago (Huizinga J.D, 2018).

La actividad de marcapasos secundario de las ICC-IM en el intestino delgado y estómago se ha observado en varios estudios que demuestran la abundante densidad de ICC-MP en la curvatura mayor del estómago que va disminuyendo hasta hacerse ausente en la curvatura menor (figura 8) (Hirst D. y cols., 2004).

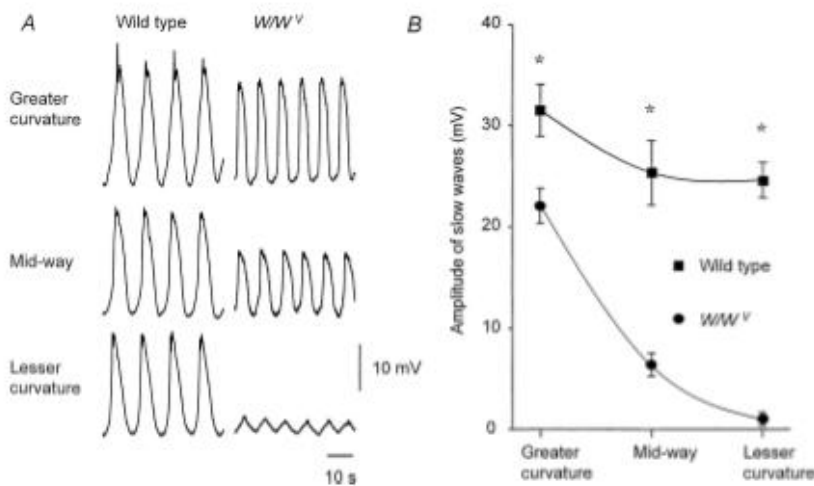


Figura 8. Diferencias en el mantenimiento de las ondas lentas por las ICC-IM en ratones salvajes con presencia de ICC-IM, donde se observa el mantenimiento de las ondas lentas en la curvatura menor gástrica (donde hay una baja densidad de ICC-MP); y en ratones mutantes carentes de ICC-IM donde las ondas lentas disminuyen en la curvatura menor (Hirst D y cols., 2004).

Las ICC del plexo submucoso son las células marcapasos dominantes en el músculo liso colónico. Existe la hipótesis de que en el colon se generan ondas lentas en la submucosa de la capa circular y se propagan hacia el borde mientérico (Smith y cols., 1987).

5.2.4.2. Mecanorrecepción

Algunos autores han sugerido que las ICC también pueden desempeñar un papel como receptores de estiramiento en los músculos gastrointestinales. La hipótesis de que estas células podrían actuar como receptores de estiramiento se basa en la existencia de unas estructuras especiales llamadas uniones “peg and socket” que se extienden desde una célula muscular lisa hasta una invaginación de la membrana plasmática de una célula muscular lisa vecina o ICC. Así, estas estructuras podrían servir como mecanorreceptores que regulan el acoplamiento músculo liso - célula intersticial y la sensibilidad interna de una capa muscular al estiramiento (Fausson-Pellegrini M.S, 1999).

La distensión de la musculatura gastrointestinal por el contenido alimenticio o de desecho es un mecanismo fundamental para potenciar la actividad marcapasos liberando calcio del retículo sarcoplásmico. Este estiramiento actúa sobre las ICC que transmiten dicha información a los nervios entéricos, por lo que un estiramiento excesivo, como puede ocurrir en la retención de heces en el caso del estreñimiento, puede provocar la pérdida y deterioro de las ICC (Huizinga J.D, 2018).

Las ICC-IM se caracterizan por la presencia de alta densidad de uniones “peg and socket” que actúan como sensores de estiramiento (figura 9). Las ICC-IM del antro perciben el estiramiento producido por la ingesta generando una despolarización transitoria de las células musculares lisas que causan un aumento en la frecuencia de onda lenta. Por otra parte, las ICC-DMP del colon también han demostrado actuar en la mecanorrecepción en estudios en los que la distensión gastrointestinal ha sido inhibida como consecuencia del daño de las ICC-DMP por determinadas infecciones. También se ha sugerido la implicación de las ICC-SS en la actividad mecanorreceptora gástrica provocando la contracción del músculo longitudinal (Sanders K. y cols., 2006; Huizinga J.D, 2018).

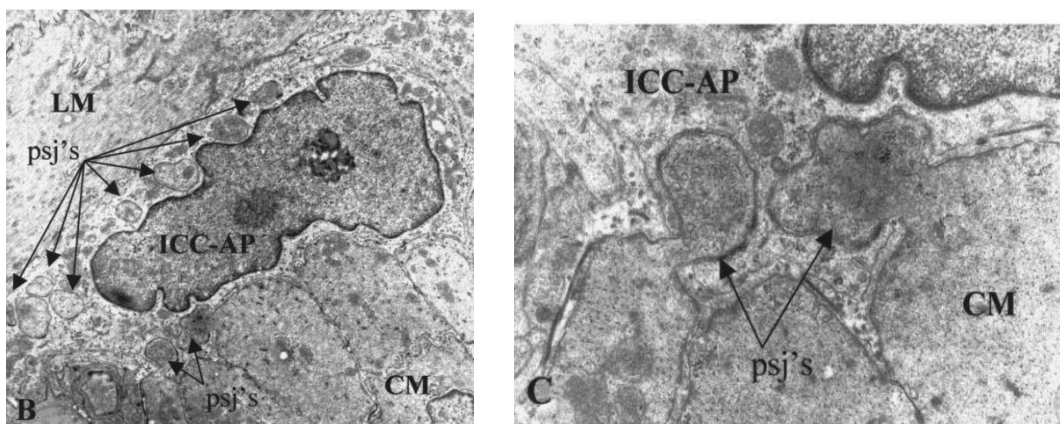


Figura 9. Unión peg and socket (flecha) entre ICC y célula muscular lisa (Thuneberg L. y cols., 2001).

Además, las ICC-SMP del plexo submucoso contribuyen a la regulación de funciones en la mucosa intestinal específicas tales como la secreción, absorción y transporte de los fluidos. Por tanto, es probable que las ICC-SMP estén involucradas en la regulación de los movimientos espontáneos de la muscular de la mucosa adyacente al plexo submucoso, funcionando como célula marcapasos de la fibra muscular lisa de la muscularis mucosa. También se ha relacionado a las ICC del plexo submucoso con el movimiento de las vellosidades intestinales de la muscularis mucosa influyendo en el transporte de líquidos en el tracto gastrointestinal (Kunisawa Y. y cols., 2008).

Por lo tanto, estos datos sugieren que, fundamentalmente, las ICC-IM y las ICC-SMP parecen tener una función como mecanorreceptores, transformando las fuerzas mecánicas en corrientes eléctricas y transfiriendo señales a las terminaciones nerviosas, lo que probablemente se relaciona con la regulación de la actividad motora en respuesta a la distensión (Sanders K. y cols., 2006).

5.2.4.3. Neurotransmisión entérica

Jan Boeken, en su primer estudio en forma de tesis, en 1949, definió a las ICC como una región de las terminaciones nerviosas donde se producía la energía necesaria para transmitir el impulso nervioso. Los fisiólogos dedujeron con sus experimentos que el origen de las ondas lentas no eran las células musculares lisas, sino las células de Cajal que actuaban como intermediarias entre los terminales nerviosos y las células musculares lisas (Huizinga J.D, 2018).

La generación y propagación de ondas lentas por las ICC no implica necesariamente que exista sinapsis entre éstas y el terminal nervioso. Con el microscopio electrónico, se ha demostrado la proximidad entre las fibras nerviosas entéricas y las ICC, lo que apoya la evidencia de que existe un tipo de transmisión de información neural, cuyo mediador principal es el óxido nítrico (NO) (Sanders K. y cols., 2006; Yazigi R, 2006).

Anteriormente, se pensaba que las fibras nerviosas motoras liberaban neurotransmisores que actuaban sobre los receptores del músculo liso provocando su contracción o relajación a través de distintas vías. En los últimos años, existe la hipótesis de que las ICC son capaces de transducir señales neuronales a las células musculares lisas debido a la proximidad de las fibras nerviosas con las ICC, la presencia de proteínas asociadas a sinapsis en las ICC, las uniones gap entre las células de Cajal y las células musculares lisas, los contactos sinápticos entre las fibras nerviosas que contienen neurotransmisores y las ICC. Por otra parte, diversos estudios en los que se ha observado una pérdida de neurotransmisión en animales que carecen de ICC debido a un déficit del receptor c-kit, sugiere la evidencia del papel de las ICC en la neurotransmisión. El análisis de los datos del estudio muestra que los animales que carecen de ICC pueden tener un aumento de la neurotransmisión taquiquinérgica y una disminución en la nitrérgica, sin presentar alteraciones en la colinérgica ni purinérgica, lo cual puede deberse a defectos del músculo liso asociados con la deficiencia de c-kit (Goyal R. y cols., 2009; Sanders y cols., 2006).

Existen distintas evidencias que sostienen la teoría de su actuación como intermediarias en la neurotransmisión: en los lugares en los que las terminaciones nerviosas no hacen contacto con las células musculares lisas, la neurona entérica libera neurotransmisores, los cuales se unen a receptores específicos Kit en las ICC y estas células transmiten a las células musculares, a través de uniones gap, señales activadoras o inhibitoras (Sanders K. y cols., 2006).

Estudios inmunohistoquímicos han revelado que las ICC aisladas responden a una variedad de neurotransmisores entéricos excitadores e inhibidores. Fibras nerviosas teñidas con transmisores primarios de las neuronas motoras **excitadoras**, tales como transportador vesicular de acetilcolina y la sustancia P, están estrechamente asociados con los cuerpos celulares y prolongaciones de las ICC-IM en el estómago y con ICC-DMP en el intestino delgado. A su vez muchas neuronas motoras **inhibidoras** que contienen oxido nítrico sintasa (NOS), polipéptido intestinal vasoactivo (VIP) o adenosina trifosfato (ATP) están también relacionados con las ICC-IM e ICC-DMP.

Así, las neuronas motoras entéricas tanto excitatorias (transportador de acetilcolina y sustancia P) como inhibitorias (oxido nítrico sintasa, péptido intestinal vasoactivo y ATP) están vinculadas con las ICC-DMP del intestino delgado y las ICC-IM del estómago (García Lopez P. y cols, 2009).

Las ICC-IM están muy relacionadas con los terminales nerviosos de las neuronas motoras entéricas, y la pérdida de ICC-IM reduce las respuestas neuronales postuniones a la neurotransmisión colinérgica y nitrérgica, sugiriendo que las **ICC-IM** actúan como mediadores de la neurotransmisión entérica. De hecho, este subtipo de ICC parece ser el sitio primario de inervación de los músculos gastrointestinales por las neuronas motoras entéricas (Horiguchi y cols., 2003). Además de la asociación de las ICC-IM con neuronas motoras entéricas excitatorias e inhibitorias, también se ha vinculado a las ICC-IM con las células musculares lisas, transmitiendo el potencial de acción a través de uniones gap. Por lo tanto, las señales eléctricas inducidas en ICC-IM, por entradas neuronales, pueden ser conducidas a las células musculares lisas circundantes (Sanders K. y cols., 2006).

El NO, liberado por las motoneuronas inhibitorias entéricas no adrenérgicas-no colinérgicas (NANC), es un mediador principal en la relajación adaptativa del estómago, al aumentar su volumen como respuesta a la ingesta de alimentos. Se sugiere que esta relajación gástrica depende de la interacción entre las motoneuronas inhibitorias entéricas, ICC-IM y las células musculares lisas. Las ICC-IM expresan canales iónicos necesarios para la transducción de señales de NO en respuestas eléctricas, lo que proporcionaría una evidencia funcional para la hipótesis de intercalación propuesta por Cajal, al demostrarse que la ICC está interpuesta entre las fibras nerviosas y las células musculares lisas (Burns A. y cols., 1996).

6. FISIOLÓGÍA Y ALTERACIONES FUNCIONALES DE LAS ICC EN EL TRACTO GASTROINTESTINAL

6.1 FISIOLÓGÍA DE LA MOTILIDAD GASTROINTESTINAL

La función principal del estómago es actuar como un depósito de alimentos ingeridos y realizar la descomposición mecánica y química del contenido gástrico formándose un quimo que va al duodeno. En el intestino delgado, este quimo es degradado por las enzimas digestivas en componentes moleculares que son absorbidos a través de la pared intestinal. Este proceso está regulado por la liberación de hormonas peptídicas gastrointestinales (grelina y péptido glucagón-1) que sirven para contrarrestar el proceso de vaciado y para estimular las contracciones en el estado de ayuno, y así preparar el estómago para otra comida. La grelina es un estimulador potente de las contracciones y vaciamiento gástrico, mientras que el péptido glucagón inhibe este proceso de vaciado (Koch K, 1999).

El **vaciamiento gástrico normal** requiere de una secuencia coordinada de eventos, lo que refleja la integración de la actividad motora del estómago proximal, antro, píloro y duodeno, sin que un solo componente motor ejerza el control dominante. El estómago proximal, responsable de la recepción y el almacenamiento del bolo alimenticio, experimenta una relajación inicial receptiva en respuesta a los alimentos ingeridos, seguida de una relajación adaptativa más prolongada. Es aquí donde se retienen los sólidos antes de la redistribución al antro, donde las contracciones peristálticas ayudan a triturar lo ingerido. Esta relajación del estómago proximal está mediada por vías vagales eferentes y **NO**. En cambio, el estómago distal está asociado con anillos de contracción circulares propagados distalmente (ondas peristálticas de contracción formadas como resultado de las contracciones en las capas longitudinales oblicuas internas, circulares intermedias y longitudinales externas de la muscularis externa) que se extienden aboralmente a través de la pared gástrica distal y se cree que estas contracciones se originan en las ICC, que son células marcapasos especializadas ubicadas en el plexo mientérico. Por tanto, la peristalsis gástrica está controlada por la actividad eléctrica intrínseca de las células marcapasos gástricos, que probablemente es generada por las ICC. El área de marcapasos gástrico se encuentra en la unión del fondo y el cuerpo en la curvatura mayor y genera un ritmo basal de onda lenta con una frecuencia de tres ondas por minuto (figura 10). La onda lenta gástrica eléctrica (actividad de control eléctrico) y la de espiga (actividad de respuesta eléctrica) son los componentes de la mioelectricidad gástrica. Estas ondas lentas se propagan hacia la región distal gástrica generando picos que inducen la contracción del músculo liso, y, por tanto, desempeñan

un papel fundamental en la regulación del vaciamiento gástrico (lo que sucederá cuando las pequeñas partículas de la ingesta se mezclen con el jugo gástrico y formen el quimo) a través del píloro hacia el duodeno, mientras que la región gástrica proximal permanece en silencio sin despolarizaciones espontáneas.

La activación de las **neuronas excitatorias** situadas frente al contenido alimenticio produce la contracción del musculo liso intestinal y la activación de las **neuronas inhibitorias** causa su relajación, de manera que propicia un movimiento progresivo hacia la región distal del tubo digestivo. La ritmicidad de los movimientos peristálticos está determinada por la actividad eléctrica de las ICC (Koch K, 1999; Romero-Trujillo J.O y cols., 2012; Stevens J.E y cols., 2013).

Las actividades mioeléctricas y contráctiles gástricas que ocurren durante estas funciones fisiológicas están controladas por la actividad del sistema nervioso intrínseco (entérico) y extrínseco (parasimpático y simpático). La principal regulación extrínseca está dada por la inervación vagal. Aunque la mayoría de los aferentes vagales que llegan al estómago son excitatorios, algunas terminaciones nerviosas vagales producen estímulos inhibitorios a través de neurotransmisores como el NO y el VIP. Las funciones de la motilidad del estómago requieren de la interacción de los procesos inhibidores y estimuladores neuronales, humorales y mecánicos controlados por el nervio vago y el plexo mientérico (Rodríguez-Varón A. y cols., 2010).

El sistema nervioso autónomo vincula la actividad del SNC y SNE para modular la motilidad gastrointestinal. Las funciones de varios neurotransmisores, neuropéptidos y hormonas intestinales como la gastrina y la motilina en la modulación de las funciones eléctricas y contráctiles gástricas aún no están completamente establecidas. Se han relacionado niveles plasmáticos altos de motilina con el inicio de la fase III del vaciamiento gástrico que es la encargada de los movimientos migratorios gástrico hacia el duodeno (Koch K, 1999).

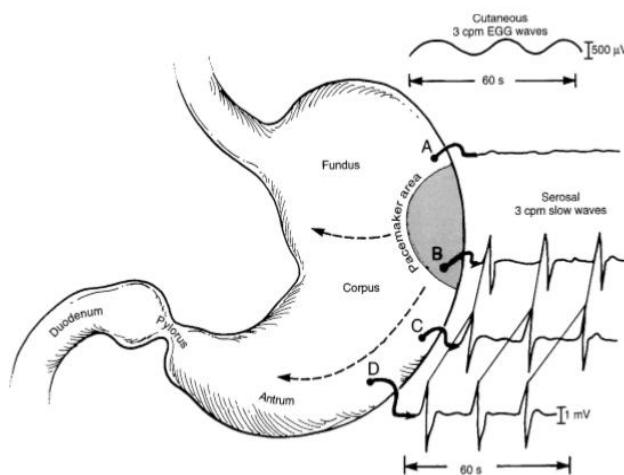


Figura 10. Ondas lentas originadas en el área marcapasos con una frecuencia de 3 ondas por minuto (Koch K, 1999).

6.2 ALTERACIONES FUNCIONALES DE LAS ICC EN EL TRACTO GASTROINTESTINAL

El papel principal de las células intersticiales de Cajal en las alteraciones gastrointestinales ha sido difícil de establecer ya que las conexiones de las ICC forman parte de un sistema muy amplio que interviene en la motilidad intestinal, en el que están implicados los nervios sensitivos y motores del sistema nervioso entérico y el sistema nervioso autonómico extrínseco. En varios estudios, se ha demostrado la relación de la dismotilidad intestinal con una disminución en el número de ICC, y se ha observado que estas células están implicadas en enfermedades digestivas tales como acalasia, pseudoobstrucción intestinal, enteritis necrotizante o enfermedad inflamatoria intestinal (Huizinga J.D, 2018).

También se les ha relacionado con patologías de la infancia como la enfermedad de Hirschprung neonatal. Esta anomalía consiste en un defecto congénito caracterizado por una obstrucción intestinal no mecánica y en una ausencia de las células ganglionares parasimpáticas de los plexos autónomos del intestino distal. Es debida a un defecto en la migración de las células embrionarias de la cresta neural. Mientras que los ganglios del SNE están ausentes, los nervios extrínsecos colinérgicos están presentes en abundancia en la pared del intestino de estos pacientes. En la enfermedad de Hirschsprung, se observan fibras densamente empacadas con gran tinción AChE a través de todo el grosor de la muscularis mucosa (Chams A. y cols., 2011). La ausencia de células ganglionares inhibitorias se demuestra por la falta de NO en los segmentos aganglionares. En la zona intestinal agangliónica y en la zona de transición de la enfermedad de Hirschsprung hay un número reducido ICC c-kit positivas o conexiones de ICC interrumpidas, lo que ha provocado el desarrollo de estreñimiento severo y continuo, llevando en muchos casos a una resección más amplia del segmento dilatado (Ribeiro A.F y cols., 2016). Se puede argumentar que en el segmento agangliónico del intestino de esta enfermedad, que, por definición, carece de neuronas entéricas, las redes ICC no se desarrollarían normalmente porque estas células se producen en estrecha asociación con las neuronas o las fibras nerviosas del sistema nervioso entérico (Burns JA, 2007). La motilidad anormal en los niños prematuros puede estar relacionada con el subdesarrollo de las ICC, ya que algunas no son maduras al nacer (Huizinga J.D, 2018).

Aunque los estudios sobre las ICC se han centrado principalmente en su papel como marcapasos y neurotransmisor, estas células también intervienen en procesos tumorales del estroma gastrointestinal (GIST) debidos a mutaciones en el gen c-kit. Una mutación en el gen del receptor kit puede provocar que la célula se transforme en maligna, pudiendo dar lugar a una proliferación incontrolada y desarrollo de tumores. En los últimos años, han aparecido nuevas terapias, como el imatinib, que impiden específicamente la acción del receptor c-kit y detienen la

división de las células del tumor que provocan la variante mutada de este receptor (Eizaguirre-Zarza B. y cols., 2006).

Además de su asociación con lesiones en el sistema digestivo, también se ha visto la implicación de estas células en el estrés oxidativo desempeñando un papel fundamental en el envejecimiento. A su vez, se ha demostrado que el envejecimiento es un factor importante en la dismotilidad gastrointestinal (Sun T y cols., 2018). En determinadas enfermedades de larga evolución como la diabetes, se han observado pérdidas o defectos en las ICC, relacionados tanto con el estrés oxidativo como con alteraciones de la motilidad gástrica, contribuyendo al desarrollo a largo plazo de disfunción neuromuscular gástrica (gastropatía) (Ordog T. y cols., 2000).

La gastropatía diabética es una manifestación de la neuropatía autonómica diabética, que se caracteriza por síntomas gastrointestinales debilitantes y pueden también interferir con la glucorregulación dando lugar a un retardo del vaciamiento gástrico. Los mecanismos que influyen en esta enfermedad incluyen la neuropatía intrínseca y extrínseca, un desbalance hormonal (aumento de prostaglandinas y elevados niveles de glucagón postprandial que favorecen el retardo de vaciamiento gástrico) y alteraciones psicológicas como el estrés. Las ICC están marcadamente disminuidas y hay una reducción del NO por alteración de la óxido nítrico sintetasa, que induce al espasmo pilórico y la hipomotilidad antral (Uranga-Ocio JA y cols., 2015).

7. PATOLOGÍA GÁSTRICA

Los pacientes con diabetes de larga evolución suelen sufrir disfunción neuromuscular gástrica que causa síntomas que van desde la hinchazón postprandial hasta los vómitos recurrentes. Se cree que la neuropatía autonómica es responsable de la gastropatía diabética y de los trastornos en el vaciamiento gástrico. La pérdida de tono vagal y el aumento de la actividad del sistema nervioso simpático se han asociado con arritmias gástricas en algunos pacientes diabéticos. También se ha reconocido que la pérdida o disfunción de las ICC podría contribuir al desarrollo de la gastroparesia diabética. Para poder entender los mecanismos subyacentes de esta enfermedad, aun no conocidos con precisión, es necesario realizar primero el estudio de la fisiología gástrica para poder valorar su implicación en el desarrollo de determinadas enfermedades (Koch K, 1999).

La gastropatía diabética, incluido el deterioro de la relajación del fundus gástrico y del píloro y la alteración del marcapasos, se considera generalmente el resultado de neuropatías sistémicas o entéricas, sin embargo la fisiopatología de estos trastornos aún se está investigando. En pacientes diabéticos, el tono fúndico no se relaja normalmente. Las arritmias gástricas, el antro dilatado y la hipomotilidad antral pueden estar presentes. El piloroespasmo y la resistencia duodenal pueden contribuir al retraso en el vaciamiento gástrico (Koch K, 1999).

La patología gástrica asociada a la diabetes está relacionada con cambios histológicos relacionados con una disminución de las enzimas hemooxigenasa-1 (HO-1) y óxido nítrico sintasa (nNOS). La HO-1 actúa como antioxidante y también confiere neuroprotección y su producto, el monóxido de carbono, también protege a las células frente al estrés oxidativo en patologías como la diabetes. Por tanto, la disminución de la HO-1 produce un aumento del estrés oxidativo y un retraso en el vaciamiento gástrico como ocurre en la gastroparesia diabética. Por otro lado, la nNOS, encargada de la producción de óxido nítrico tiene función relajante. La expresión de nNOS se pierde de forma prematura en el curso de la diabetes, antes incluso que el enlentecimiento del vaciado gástrico. La reducción en la expresión de la NOS en la gastropatía diabética ocurre pero con menor frecuencia que la disminución de HO-1 (Stevens J.E y cols., 2013).

La neuropatía autónoma irreversible (vagal) se ha considerado durante mucho tiempo como la causa de la gastroparesia diabética. Sin embargo, la correlación entre la disfunción del nervio autónomo y el vaciamiento gástrico desordenado en estos pacientes es débil e inconsistente, aunque se ha demostrado un número reducido de neuronas extrínsecas autónomas en algunos pacientes (Koch K, 1999).

En 1958, Kassander sugirió que los pacientes diabéticos tenían una “autovagotomía” debido a la similitud entre los hallazgos radiográficos de la gastroparesia y la atonía gástrica observada después de vagotomía quirúrgica. Sin embargo, la expresión de óxido nítrico sintetasa (NOS) neuronal es independiente del nervio vago, por lo que la neuropatía vagal podría no ser causa de las alteraciones de la motilidad gástrica (Uranga-Ocio JA y cols., 2015).

También se ha demostrado que los cambios agudos de la concentración de glucosa en sangre tienen un efecto importante y reversible sobre la motilidad intestinal (Stevens J.E y cols., 2013).

7.1. PAPEL DE LAS ICC EN LA GASTROPATÍA DIABÉTICA

Algunos estudios además de asociar la gastropatía diabética con la disminución de la **HO-1** y una disregulación en la **nNOS** que lleva a una menor síntesis y liberación de NO por los terminales nerviosos con una disminución en la relajación gástrica, también han demostrado una reducción de las **ICC** y de los **nervios entéricos**. Sin embargo, las ICC o pérdida del nervio entérico no se correlacionan con la gravedad de los síntomas (Watkins C y cols., 2000).

En los pacientes con gastroparesia, el hallazgo más comúnmente encontrado en las biopsias gástricas es la pérdida de la expresión del kit, asociada con la pérdida de ICC que conlleva a un retraso en el vaciamiento gástrico (Huizinga J.D, 2018).

Numerosos estudios fisiológicos han demostrado que el marcapasos eléctrico y la neurotransmisión motora en el estómago dependen de la función de las células intersticiales de Cajal. Las ICC de la región mientérica (ICC-MP) se han identificado como fuente de ondas lentas de la musculatura gástrica. Se ha demostrado que la pérdida de ICC-MP en el estómago, precipitada por la inhibición de la señalización a través del receptor kit, produce la pérdida de ondas lentas y elimina la capacidad de la musculatura para generar estas ondas en respuesta a estímulos despolarizantes.

Las ICC no requieren aportaciones de los sistemas nervioso autónomo o entérico para su función como marcapasos. Sin embargo, suelen estar estrechamente relacionadas con elementos neurales de la pared intestinal. Las ICC-IM, que se encuentran paralelas a las células musculares lisas en el fundus gástrico, así como en los esfínteres esofágico y pilórico inferiores, median las entradas excitatorias e inhibitorias desde las neuronas entéricas motoras hasta las

células musculares lisas. La **pérdida de ICC-IM** en el estómago perjudica gravemente el control neuronal de la motilidad gástrica.

Los hallazgos más comúnmente observados en las **biopsias** de pacientes con gastropatía diabética son la presencia de un estroma anormal de tejido conjuntivo, la pérdida de ICC, un infiltrado inmune caracterizado por macrófagos y una reducción en el número de fibras nerviosas entéricas. También se ha visto una reducción en la expresión de la sintetasa de óxido nítrico neuronal (NOS) aunque con menor frecuencia. El retraso del vaciamiento gástrico se ha relacionado con la pérdida de ICC en pacientes con gastropatía diabética. La reducción de ICC también se ha relacionado con la pérdida de nervios entéricos en esta enfermedad. Además de la reducción en el número de ICC, también se ha relacionado a la gastroparesia diabética con una reducción de la hemooxigenasa-1 y el subsiguiente aumento del estrés oxidativo. La reexpresión de la hemooxigenasa-1 da lugar a una reversión de la pérdida de ICC y la normalización del vaciamiento gástrico. Es probable que varias anomalías fisiopatológicas contribuyan a los síntomas asociados con la gastropatía diabética, incluida la alteración de la regulación del tono fúndico y la acomodación, la hipomotilidad antral, aumento de la presión pilórica, la alteración de la coordinación antropiloroduodenal y la arritmia gástrica (Stevens J.E y cols., 2013).

Anomalías motoras significativas similares a las que ocurren en la gastropatía diabética surgirían si las ICC se dañaran o se perdieran debido a la diabetes. Por tanto, la disminución o la alteración de las redes de ICC gástricas pueden contribuir a la gastropatía diabética. El reconocimiento del papel de las ICC en esta complicación de la diabetes puede proporcionar una base para tratamientos más efectivos (Ordog T. y cols., 2000).

7.2. TERAPIA INSULÍNICA

Se ha demostrado que los cambios agudos de la concentración de glucosa en sangre tienen un efecto importante y reversible sobre la motilidad gastrointestinal en todas las regiones del tracto gastrointestinal tanto en sujetos sanos como el paciente diabético. En pacientes con diabetes tipo I de larga duración, la tasa de vaciado gástrico es más lenta durante la hiperglucemia marcada que cuando los niveles glucémicos son normales. Asimismo, los cambios en la concentración de glucosa en sangre que están dentro del rango postprandial normal también influyen en el vaciamiento gástrico. En contraste, la hipoglucemia inducida por

insulina acelera el vaciamiento gástrico, lo que puede representar un mecanismo importante en la contrarregulación de la hipoglucemia (Stevens J.E y cols., 2013).

Las estrategias de tratamiento y prevención de la dismotilidad gastrointestinal y la neuropatía entérica subyacente requieren un adecuado control de la glucemia fundamentalmente (Uranga-Ocio JA y cols., 2015). La DM se caracteriza por una deficiencia en la producción de insulina por parte de las células beta (DM tipo 1) o resistencia a la insulina en las células diana (DM tipo 2), además de esto, se ha documentado una disminución en el factor de crecimiento IGF-1. La insulina y el IGF-1 comparten homologías estructurales, al igual que sus receptores, InsR y IGF-1R, respectivamente. Por lo tanto, existe una interferencia fisiológica y farmacológica entre ambos. La señalización de insulina / InsR e IGF-1 / IGF-1R deteriorada se relacionó estrechamente con la neuropatía periférica diabética, que podría mejorarse o prevenirse con la insulina o el tratamiento con IGF-1. Sin embargo, se sabe mucho menos sobre el papel de la señalización de insulina / InsR e IGF-1 / IGF-1R en la ENS y la ICC durante el desarrollo de la gastroparesia diabética. Un ensayo piloto en pacientes con DM tipo 1 reveló que el tratamiento con insulina aceleró eficazmente el vaciado gástrico, lo que sugiere un posible papel de la señalización de insulina / InsR en la gastroparesia diabética (Ordog T. y cols., 2000).

Ordog demostró que la insulina y el factor de crecimiento insulínico 1 (IGF-1) son críticos para el mantenimiento de las ICC. La afectación en la producción de insulina e IGF-1 puede llevar a una reducción en la producción de factor de células madre en células de músculo liso, lo que priva a las ICC de su factor de crecimiento que actúa sobre el receptor kit, para lo cual la IL 9 puede tener un papel reparador en la ICC después de la lesión.

8. DISCUSIÓN

I. FUNCIONES DE LAS ICC EN LA MOTILIDAD GÁSTRICA

En el tracto gastrointestinal, las contracciones fásicas se deben a una actividad eléctrica denominada ondas lentas. Las ondas lentas se generan y se propagan gracias a las células intersticiales de Cajal. Además de su actuación como marcapasos generando un potencial de acción, las ICC también están implicadas en la contracción del músculo liso recibiendo el potencial de acción por parte de la fibra nerviosa y transmitiéndolo a la célula muscular lisa.

1) ICC en marcapasos

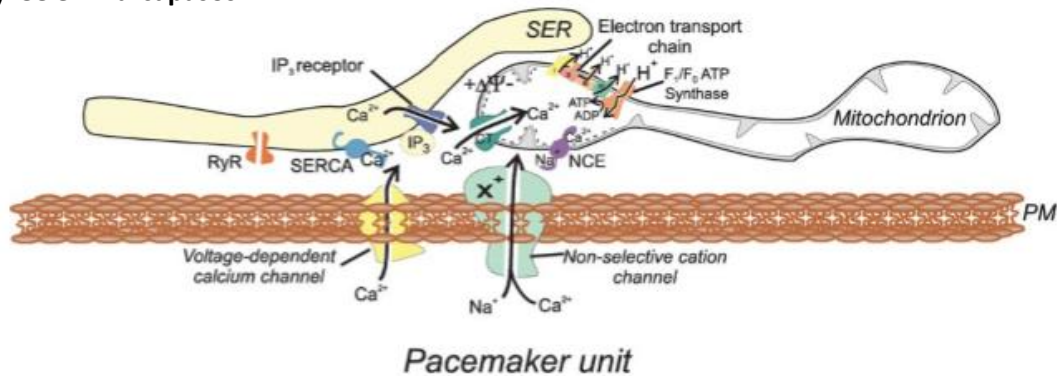


Figura 11. Unidad marcapasos en la generación de la onda lenta en la ICC (Sanders y cols., 2006).

En la actividad marcapasos de las ICC es fundamental la acción del complejo mitocondria-retículo endoplasmático-membrana celular conocida como la unidad marcapasos (figura 11), y los mecanismos de entrada y salida del calcio entre estos compartimentos generando el potencial de acción que da lugar a la actividad marcapasos de las ICC. Los niveles de calcio intracelular están regulados por la entrada de calcio extracelular y la liberación/captación en los reservorios intracelulares (mitocondrias y retículo). En este proceso participan canales situados en la membrana plasmática de las ICC: canales de calcio y canales catiónicos no selectivos que intercambian sodio y calcio.

En primer lugar, los iones de calcio son liberados desde los receptores de inositol 1,4,5-trifosfato, situados en el retículo sarcoplásmico, generando una corriente de calcio hacia fuera. Este calcio que se encuentra en el citoplasma celular es captado por las mitocondrias las cuales están en estrecha relación con los lugares de liberación del retículo sarcoplásmico (supuesto almacén de calcio en las unidades marcapasos) y con los canales de la membrana plasmática. Se ha demostrado que el manejo de calcio por

parte de las mitocondrias desempeña un papel central en la generación de potenciales marcapasos. La depleción de calcio citoplasmático junto con el ATP generado por las mitocondrias activa los canales dependientes de calcio y los canales catiónicos no selectivos de la membrana celular generando una corriente de entrada de sodio y calcio. La despolarización producida por la apertura de estos canales despolariza la ICC lo que produce una recaptación de calcio en el retículo endoplasmático a través de bombas de calcio SERCA, y así reiniciar el ciclo.

En la figura 8 también se observan canales de rianodina (RyR) en el retículo sarcoplásmico cuya función es la liberación de calcio. Sin embargo, parece que estos canales no tienen un papel directo sobre la actividad marcapasos (Sanders K y cols., 2006).

2) ICC en neurotransmisión

El proceso de transmisión de señales en la unión neuromuscular consiste en la actuación directa del neurotransmisor sobre la célula muscular lisa, es decir, las fibras nerviosas liberan neurotransmisores que actúan sobre los receptores de las células musculares provocando la contracción o relajación.

Sin embargo, se ha estudiado en los últimos años el papel de las ICC actuando como mediadoras entre la fibra nerviosa y la célula muscular. Varios estudios han confirmado la **relación entre las ICC y las fibras nerviosas entéricas**, es decir, la transmisión del potencial de acción generado por las fibras nerviosas entéricas y la recepción de este potencial de acción por las ICC (figura 12) (Ward, 2000).

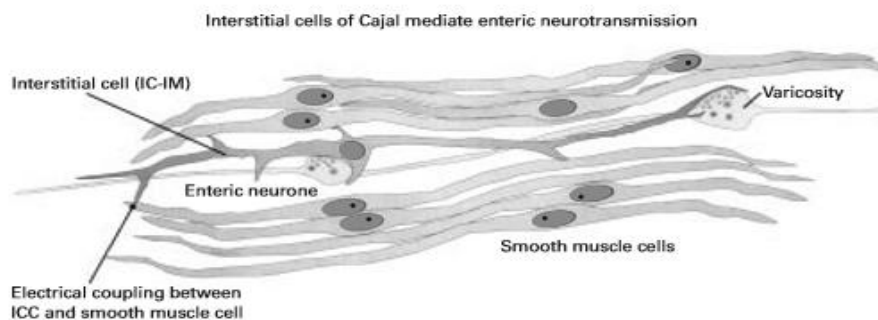


Figura 12. Conexiones fibra nerviosa entérica - ICC - célula muscular lisa (Ward, 2000).

Se ha demostrado que los contactos entre los terminales nerviosos entéricos y la membrana de las ICC son similares a la sinapsis neurona-neurona en el SNC y en la unión neuromuscular (Ward, 2000). Las prolongaciones de las fibras nerviosas tienen una relación muy cercana con las ICC. En primer lugar, la fibra nerviosa recibe un estímulo y se produce la apertura de canales de sodio, la entrada de sodio induce una despolarización que abre canales de calcio. Estos permiten la entrada de grandes cantidades de calcio que difunden hasta el interior del terminal. La entrada de este ion en las neuronas excitatorias libera neurotransmisores como acetilcolina o sustancia P, y en las neuronas inhibitorias produce la liberación de óxido nítrico hacia las ICC. En este proceso intervienen las proteínas de fusión SNARE, como la sinaptotagmina, syntaxina y SNAP-25, involucradas en la liberación de neurotransmisores desde las terminaciones nerviosas. Estas proteínas influyen en el acoplamiento y fusión de la vesícula a la membrana presináptica y la liberación de neurotransmisores. También es fundamental el papel que desempeñan las mitocondrias proporcionando la energía necesaria para sintetizar nuevos neurotransmisores (Beckett y cols., 2005).

Los receptores muscarínicos M2 y M3 y las neurokininas NK1 y NK3 situados en la membrana de la ICC captan acetilcolina y sustancia P respectivamente. La entrada de estos neurotransmisores **excitatorios** en la ICC activa la fosfolipasa C que aumenta la producción de IP3. El incremento en los receptores IP3 provoca una mayor liberación de calcio al citoplasma de la ICC generando una despolarización. La unión del neurotransmisor al receptor también provoca la apertura de canales de sodio que dan comienzo a un nuevo potencial de acción y a la apertura de canales de calcio. Por otra parte, la entrada de calcio en el terminal nervioso produce la activación de la **vía inhibitoria** y activa a la nNOS que transforma la L-arginina en óxido nítrico. El NO liberado desde la fibra nerviosa es captado por los receptores de la ICC (sGC α 1 y sGC β 1) y entra en la célula activando la guanilato ciclasa que convierte el guanosin trifosfato (GTP) en guanosin monofosfato cíclico (GMPC) que activa a la protein kinasa G. Esta relaja la célula activando canales de potasio dando lugar a una hiperpolarización y activará las uniones gap que son las encargadas del acoplamiento ICC-célula muscular lisa.

Finalmente, las ICC transmiten el potencial de acción generado por las fibras nerviosas entéricas a las **células musculares lisas**, es decir intervienen en la transmisión de los impulsos nerviosos (Gallego D y cols., 2016).

La activación de la ICC provoca la apertura de las uniones gap y la entrada de neurotransmisores tanto excitatorios como inhibitorios en la célula muscular lisa. Los neurotransmisores excitatorios provocan la apertura de canales de sodio iniciando un potencial de acción en la membrana de la fibra muscular. Este potencial de acción se propaga a lo largo de los túbulos T produciendo la liberación de iones de calcio del retículo sarcoplásmico generando la contracción muscular. En cambio, el óxido nítrico provoca la apertura de canales de potasio y activa la fosfatasa de la cadena ligera de la miosina produciendo el efecto contrario, la relajación de la fibra muscular (Gallego D y cols., 2016; Huizinga JD, 2018).

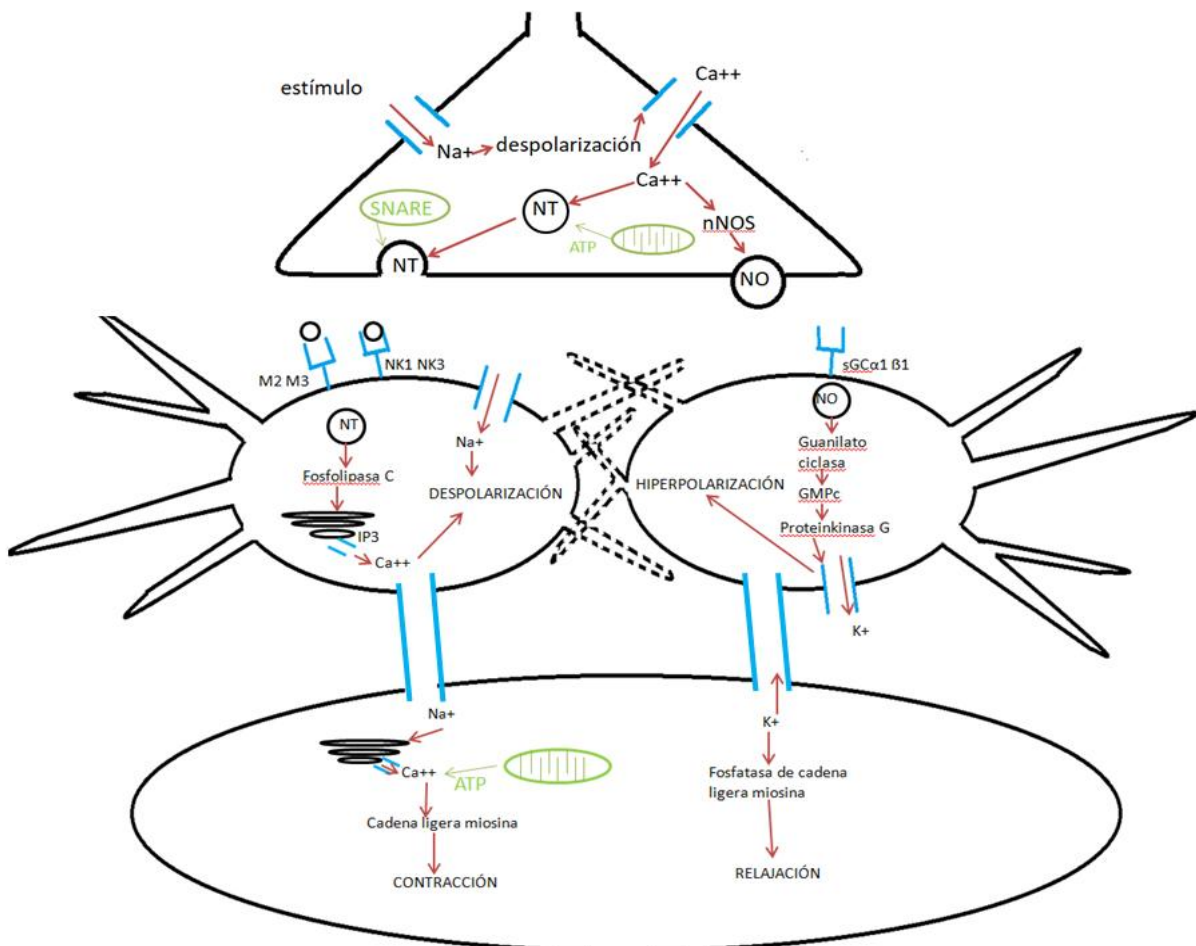


Figura 13. Papel mediador de la ICC entre el terminal nervioso y la célula muscular lisa. SNARE: proteínas de membranas. NO: óxido nítrico. M2: receptor muscarínico. NK: neuroquininas. GMPc: guanosin monofosfato cíclico.

3) ICC en la función del vaciamiento gástrico

La motilidad gástrica viene determinada por los movimientos concatenados de relajación y contracción de la célula muscular lisa dando lugar a un movimiento progresivo hacia la región distal del estómago.

La peristalsis gástrica está controlada por la actividad de las células marcapaso gástrico que se genera por las ICC. La región de marcapasos en el estómago se encuentra en la unión entre fondo y cuerpo en la curvatura mayor provocando ondas que se propagan hacia la región distal gástrica generando picos que inducen la contracción del músculo liso con su consiguiente relajación. Este proceso desempeña un papel fundamental en la regulación del vaciamiento gástrico (Koch K, 1999).

En el interior de la ICC tienen lugar una serie de mecanismos que generan un potencial de acción produciendo la contracción o relajación de la célula muscular lisa. Por una parte, la vía excitadora en la que intervienen la sustancia P y la acetilcolina produce una despolarización de la ICC con la consiguiente entrada de sodio. Así se inicia un potencial de acción en la membrana de la célula muscular lisa activando los receptores de IP₃ del retículo sarcoplásmico que liberan calcio. Este calcio activa la cadena ligera de la miosina dando lugar a la contracción de la célula muscular lisa del estómago.

Simultáneamente actúa la vía inhibitoria con la liberación de NO por parte de la nNOS desde la fibra nerviosa que provoca una hiperpolarización de la ICC abriendo canales de potasio. El potencial de acción es transmitido a la célula muscular lisa activando la fosfatasa de la cadena ligera de la miosina dando lugar a la relajación de la célula muscular lisa.

Por tanto, el peristaltismo gastrointestinal viene dado por la acción de neurotransmisores excitatorios (acetilcolina, sustancia P) que provocan la contracción de la fibra muscular, y neurotransmisores inhibitorios (NO) encargados de la relajación. Este mecanismo contracción-relajación tiene un papel fundamental en el vaciamiento gástrico generando ondas que se propagan hacia la región distal del estómago.

II. ALTERACIONES FUNCIONALES DE LAS ICC EN LA MOTILIDAD GÁSTRICA

1) Reducción de las ICC en la función marcapasos

La interacción entre las células musculares lisas y las células de Cajal son la fuente principal de generación del potencial eléctrico del músculo gastrointestinal. Las ICC actúan como marcapasos para las células musculares lisas, ya que estas últimas no son capaces de generar por si solas actividad eléctrica espontánea (Yazigi R, 2016).

Se ha relacionado la gastropatía diabética con una disminución en el número de ICC (Huizinga J.D, 2018; Stevens J.E y cols., 2013). Por ello, al verse reducida la cantidad de células de Cajal en la curvatura mayor del estómago (área de marcapasos gástrico donde se origina el peristaltismo), la cantidad de calcio liberada del retículo endoplásmico será menor, habrá una menor corriente de entrada de sodio y calcio, y por ello la despolarización global a nivel de las ICC reclutaría a un menor número de fibras musculares gástricas sobre las que generaría dicho potencial de acción. Todo ello conllevaría a una disminución en las contracciones gástricas dando lugar a un retraso en el vaciamiento gástrico.

2) Reducción de las ICC en la neurotransmisión

La gastropatía diabética además de haberse relacionado con una disminución en el número de ICC también se ha asociado a una pérdida de fibras nerviosas entéricas y a una disminución en la nNOS (Stevens J.E y cols., 2000).

En primer lugar, algunos estudios relacionan la reducción de ICC con la pérdida de nervios entéricos. Esta asociación puede deberse a que al haber una disminución de células de Cajal, hay menos conexiones entre fibras nerviosas e ICC, quedando terminales nerviosos desprovistos de su función de liberar neurotransmisores hacia las ICC produciéndose la muerte de estas neuronas entéricas. Otros estudios creen que la pérdida de terminales nerviosos es independiente de las ICC y ocurre debido a la hiperglucemia. Todavía no se conoce el mecanismo exacto por el que el aumento de la glucemia provoca la pérdida de neuronas entéricas, pero sí se puede afirmar la asociación entre hiperglucemia y apoptosis neuronal entérica (Stevens J.E , 2000).

La disminución de nNOS en pacientes con gastropatía diabética se ha relacionado con un retraso en el vaciamiento gástrico. En la fibra nerviosa, la reducción de la enzima nNOS hace que se sintetice menos NO. Este neurotransmisor es liberado por la

fibra nerviosa y captado posteriormente por los receptores de la ICC. El NO activa la proteinquinasa que abre canales de potasio generando un potencial de acción que se transmite a la célula muscular lisa. Sin embargo, el potencial eléctrico producido durante este proceso será muy bajo debido a la baja cantidad de NO sintetizada por una nNOS disminuida. Por tanto, habrá una disminución en la relajación de la fibra muscular lisa del estómago.

También podría ser que la disminución de fibras nerviosas entéricas esté relacionada con la disminución de NO. Lógicamente si hay menos neuronas entéricas desde donde se libera el NO, la cantidad de NO liberado por estas fibras nerviosas será también menor, produciendo a su vez una disminución en la relajación de la célula muscular lisa.

3) Reducción de las ICC en el vaciamiento gástrico

Una alteración en la contracción o en la relajación en las células musculares lisas de la pared del estómago va a ocasionar una disfunción en la motilidad gástrica generando un trastorno en el vaciamiento gástrico.

En la gastropatía diabética se produce un retraso del vaciamiento gástrico debido a un desequilibrio entre contracción y relajación de la musculatura gástrica. Este desequilibrio es debido a la disminución de la enzima nNOS encargada de la síntesis de NO en la fibra nerviosa entérica. La reducción de esta enzima produce menos NO que será liberado a la ICC. Este neurotransmisor inhibitorio, a través de una cascada de activación de enzimas dentro de la ICC, produce una hiperpolarización abriendo canales de potasio en la ICC. Hay que tener en cuenta que al haber menos síntesis de NO, la transmisión del potencial de acción a la célula muscular lisa gástrica va ser menor produciendo una disminución en la relajación de la fibra muscular lisa del estómago. Esto va a generar una reducción en la función normal de vaciamiento gástrico.

Además, esta disminución de NO no solo afecta a las fibras musculares del fundus gástrico, sino también al píloro. Se ha observado una disminución de ICC en el área antropilórica que lleva a una disminución de NO. Al verse reducido el neurotransmisor inhibitorio, la relajación del píloro será menor. Por tanto, predominará la contracción del esfínter sobre la relajación. Una contracción pilórica prolongada

causa resistencia a la salida del estómago por lo que el vaciamiento gástrico será más lento.

Sin embargo, no hay estudios que refieran alteraciones en la vía excitatoria en pacientes con gastropatía diabética, por tanto la alteración es fundamentalmente en la vía inhibitoria actuando sobre la función de relajación muscular del NO. De esta forma tendrá lugar una disminución de la relajación y un predominio de la contracción en las fibras musculares gástricas provocando el retraso en el vaciamiento gástrico típico de la gastropatía diabética.

III. REDUCCIÓN DE LA HEMOOXIGENASA-1 EN EL VACIAMIENTO GÁSTRICO

Se ha relacionado la actividad neurotransmisora de las ICC con el envejecimiento y el estrés oxidativo. Diversos estudios han revelado la asociación entre el proceso de envejecimiento y la motilidad gástrica como una disminución en la relajación del estómago que induce saciedad precoz en personas mayores. El NO juega un papel importante en el mecanismo de la saciedad y podría haber una disminución de NO con la edad. También se ha observado una menor proporción de áreas c-kit positivo en las ICC de la submucosa y del plexo mientérico en personas de mayor edad.

Además de observarse asociación entre gastropatía diabética y disminución de nNOS, también se ha visto asociación entre esta patología y una disminución de la hemooxigenasa-1 (HO-1). Se ha informado que la regulación de la HO-1 que desempeña un papel fundamental en la defensa celular contra el estrés oxidativo protege a las ICC del estrés oxidativo en pacientes diabéticos. Por tanto, la HO-1 juega un papel importante en el sistema de defensa antioxidante del organismo, por lo que alteraciones en esta enzima están vinculadas a desarrollar enfermedades asociadas al estrés oxidativo (Suzuki y cols., 2011).

En condiciones fisiológicas, existe un equilibrio entre la generación y degradación de radicales libres. Cuando este equilibrio se rompe (por la producción de radicales en exceso o por disminución de los sistemas de defensa) se produce daño oxidativo.

Los niveles elevados de glucosa en el organismo reaccionan con proteínas del organismo y generan productos finales de glicación. Estos activan la NADPH oxidasa endotelial e incrementan las especies reactivas de oxígeno (ROS). Las ROS pueden

oxidar y dañar las proteínas celulares y el ADN, que a su vez puede perjudicar a la estructura de las ICC. Todavía no se conoce si estos oxidantes actúan sobre la membrana de las ICC alterando su estructura o actúan sobre los receptores de las células de Cajal interfiriendo en la neurotransmisión. Existen hipótesis del estrés oxidativo mediado por NO. En condiciones inflamatorias, el superóxido (especie reactiva de oxígeno) procedente de las mitocondrias de las ICC reacciona con el NO que llega de la fibra nerviosa. Por tanto, la ICC puede ser susceptible al estrés oxidativo inducido por ROS (Cuerda C. y cols., 2011; Kaji N. y cols., 2016).

Sin embargo, el aumento de estrés oxidativo descrito en diabéticos no está únicamente relacionado con la aceleración en la producción de especies reactivas de oxígeno, sino también con la disminución de antioxidantes como la enzima HO-1, esencial para proteger a la ICC de lesiones oxidativas. Por ello, una reducción en la cantidad de HO-1 priva a las células de Cajal de su mecanismo antioxidante. La ICC queda desprotegida frente al estrés oxidativo provocado por niveles elevados de glucosa, produciéndose un daño en estas células alterando su funcionalidad. La disminución en el número de ICC se relaciona con retraso en el vaciamiento gástrico. Estos cambios pueden ser revertidos por la inducción de la hemoxygenasa-1 demostrando el papel fundamental del estrés oxidativo en el desarrollo de la gastroparesia diabética (Suzuki y cols., 2011).

9. CONCLUSIONES

Primera: Las ICC tienen un origen diverso, no solo mesenquimatoso (al igual que las células musculares lisas), sino también posiblemente neuronal ya que hay un tipo de ICC (ICC-IM) derivada de la cresta neural.

Segunda: La clasificación de las ICC se realiza en función de su localización, morfología y funciones en el tracto gastrointestinal. Las ICC-MP (plexo mientérico) e ICC-IM (intramusculares) coordinan la actividad del marcapasos y la propagación de las ondas lentas para el inicio de la contracción muscular en el estómago y en el intestino delgado. Las ICC-IM también actúan como receptores de estiramiento en la musculatura de la pared gástrica. Las ICC-SM (submucosa) regulan la actividad marcapasos en el intestino grueso.

Tercera: Las ICC tienen una implicación en varias enfermedades digestivas como la enfermedad de Hirschprung, los tumores del estroma gastrointestinal (GIST), y la gastropatía diabética en la que existe una correlación entre dismotilidad intestinal y disminución en el número de ICC.

Cuarta: La ICC actúa como intermediaria entre la fibra nerviosa entérica y la célula muscular lisa. Por un parte, en su función como neurotransmisor, recibe el potencial de acción generado por la fibra nerviosa a través de una serie de mecanismos en los que intervienen canales iónicos. La nNOS libera NO desde la fibra nerviosa, el NO es captado por los receptores de la ICC y activa los canales de potasio provocando una hiperpolarización. Como consecuencia se activan las uniones gap encargadas del acoplamiento ICC-célula muscular lisa.

La disminución en la generación de los potenciales marcapasos originados por las ICC puede conllevar una disminución en las contracciones gástricas.

Quinta: El retraso en el vaciamiento gástrico en la gastropatía diabética puede ser consecuencia de la disminución en las funciones de neurotransmisión y marcapasos de las ICC, debida a una disminución de la nNOS provoca una menor captación de NO por la ICC y como consecuencia una menor transmisión del potencial de acción a la célula muscular lisa.

10. BIBLIOGRAFIA

1. Al-Shboul O. The importance of interstitial cells of cajal in the gastrointestinal tract. *Saudi J Gastroenterol.* 2013; 19(1):3-15.
2. Ambache N. The electrical activity of isolated mammalian intestines. *J. Physiol.* 1947; 106: 139–153.
3. Burns A, Lomax A, Torihashi S, Sanders K, Ward S. Interstitial cells of Cajal mediate inhibitory neurotransmission in the stomach. *Proc. Natl. Acad.* 1996; 93: 12008-13.
4. Burns AJ. Disorders of Interstitial Cells of Cajal. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition.* 2007; 45:S103-S106.
5. Cajal SR. Los ganglios y plexos nerviosos del intestino de mamíferos. *Imprenta y Librería de Nicolás Moya.* 1893; 5-37.
6. Cajal SR. *Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés.* 1911; 2:891-942.
7. Carlson B. *The Human Body.* 2017:137-75.
8. Chams A, Cardona E, Martínez R. Fisiología de la motilidad intestinal y sus anomalías durante la infancia. *Ciruped.* 2011; 1(2): 59-78.
9. Cuerda C, Luengo L.M, Valero M.A, Vidal A, Burgos R., Calvo F.L, Martínez C. antioxidantes y diabetes mellitus: revisión de la evidencia. *Nutr. Hosp.* 2011; 26(1):68-78.
10. Daniel EE. Communication between interstitial cells of Cajal and gastrointestinal muscle. *Neurogastroenterol Motil.* 2004; 16(1): 118-22.
11. D'Auriol L, Mattei MG, Andre C, Galibert F. Localization of the human c-kit protooncogene on the q11-q12 region of chromosome 4. *Hum Genet.* 1988; 78(4):374-76.
12. Eizaguirre-Zarza B, Burgos-Bretones JJ. Tumores GIST. Revisión de la literatura. *Rev Esp Patol.* 2006; 39(4):209-18.
13. Faussonne-Pellegrini MS, Thuneberg L. Guide to the identification of interstitial cells of Cajal. *Microsc Res Tech.* 1999; 47(4):248-66.
14. Fibbe C, Layer P, Keller J, Strate U, Emmermann A, Zornig C. Esophageal motility in reflux disease before and after fundoplication: a prospective, randomized, clinical, and manometric study. *Gastroenterology.* 2001;121:5–14.
15. Fosso C, Quigley E. A critical review of the current clinical landscape of gastroparesis. *Gastroenterol Hepatol.* 2018; 14(3):140-45.
16. Furness JB. The organisation of the autonomic nervous system: peripheral connections. *Autonomic Neuroscience.* 2006; 130(1):1-5.

17. Gallego D, Mañé N, Gil V, Martínez-Cutillas M, Jiménez M. Mecanismos responsables de la relajación neuromuscular en el tracto gastrointestinal. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*. 2016; 108(11): 721-31.
18. García-López P, García-Marín V, Martínez-Murillo R, Freire M. Updating old ideas and recent advances regarding the Intestinal Cells of Cajal. *Science Direct*. 2009; 61(2):154-69.
19. Goyal L, Chaudhury A. Mounting evidence against the role of ICC in neurotransmission to smooth muscle in the gut. *Am J Physiol Gastrointestinal Liver*. 2009; 298:G10-13.
20. Hall J. Guyton Y Hall: Tratado De Fisiología Médica. 13th ed. Elsevier; 2016:1949-56.
21. Hirst D, Edwards F. Role of Interstitial Cells of Cajal in the control of gastric motility. *Journal of Pharmacological Sciences*. 2004; 96:1-10.
22. Horiguchi K, Sanders K, Ward S. Enteric motor neurons form synaptic-like junctions with interstitial cells of Cajal in canine gastric antrum. *Cell tissue Res*. 2003; 311:299-313.
23. Huizinga J. The Physiology and Pathophysiology of Interstitial Cells of Cajal: Pacemaking, Innervation, and Stretch Sensation. 2018: 305-26.
24. Kito Y, Suzuki H. Properties of pacemaker potentials recorded from myenteric interstitial cells of Cajal distributed in the mouse small intestine. *J Physiol*. 2003; 553: 803-18.
25. Keith A. The Cabendish Lecture on a new theory of the causation of enterostasis. *The Lancet*. 1915:186:371-75.
26. Koch K. Gastric neuromuscular dysfunction in diabetes mellitus. A review of symptoms, pathophysiology and treatment. *Digestive Diseases and Sciences*. 1999; 44(6): 1061-75.
27. Kunisawa Y. y Komuro T. Intertitial cells of Cajal associated with the submucosal plexus of the Guinea-pig stomach. *Neuroscience Letters*. 2008; 434: 273-76.
28. Kwon YH, Nayoung K, Ryoung N, Ji P, Sung K, Hye L, Yong K Dong L. Change in the interstitial cells of cajal and nNOS positive neuronal cells with aging in the stomach of rats. *PLOS ONE*. 2017; 12(6): e0179107.
29. Ordog T, Takayama I, Cheung WK, Ward SM, Sanders K. Remodeling of networks of interstitial cells of cajal in a murine model of diabetic gastroparesis. *Diabetes Res*. 2000; 49:1731-39.
30. Pepper DJ, Kedar A, Bhajjee, FAMILONI B, Rashed H, Cutts T, Abell T. Measures of Autonomic Dysfunction in Diabetic and Idiopathic Gastroparesis. *Gastroenterology Res*. 2016; 9(4-5): 65-69.

31. Radenkovic G, Radenkovic D, Velickov A. Development of interstitial cells of Cajal in the human digestive tract as a result of reciprocal induction of mesenchymal and neural crest cells. *J. Cell. Mol. Med.* 2018; 22(2):778-85.
32. Ribeiro AF, Neves-Romanelli MT, Burstorff-Silva JM, Carvalho RB, Lomazi EA. Hirschprung disease – Postsurgical intestinal dysmotility. *Rev. Paul. Pediat.* 2016; 34(3):388-92.
33. Rodriguez-Varón A, Zuleta J. De la fisiología del vaciamiento gástrico al entendimiento de la gastroparesia. *Rev Col Gastroenterol.* 2010; 25(2): 219-25.
34. Rohyun S, Young K, Hyo-Yung Y, Woong C, Hun K, Heon K, Kwang L, Seon MP, Sei JY, Mi-Jung K, Won SK, Young-Jin S, Seok-Yong K, Wen-Xie X. Interstitial cells of Cajal (ICC)-like-c-kit-positive cells are involved in gastritis and carcinogenesis in human stomach. *Oncology reports.* 2011; 26:33-42.
35. Romero-Trujillo J, Frank-Márquez N, Cervantes-Bustamante R, Cadena-León J, Montijo-Barrios E, Zárate-Mondragón F, Cázares-Méndez J, Ramírez-Mayans J. Sistema Nervioso Entérico y Motilidad Gastrointestinal. *Gastroenterol Clin N Am.* 2012; 33(4):207-14.
36. Romert P, Mikkelsen HB. C-kit immunoreactive interstitial cells of Cajal in the human small and large intestine. *Histochem Cell Biol.* 1998; 109:195-202.
37. Sanders K, Koh SD, Ward S. Interstitial Cells of Cajal as Pacemakers in the Gastrointestinal Tract. *Annu.Rev. Physiol.* 2006; 68:307-43.
38. Sanders K, Ward S. Kit mutants and gastrointestinal physiology. *J. Physiol.* 2007; 578(1):33-42.
39. Sarlomo-Rikala M, Kovatich AJ, Barusevicius A, Miettinen M. CD 117: a sensitive marker for gastrointestinal stromal tumors that is more specific than CD34. *Mod Pathol.* 1998; 11:728-34.
40. Stevens JE, Jones KL, Rayner C, Horowitz M. Pathophysiology and pharmacotherapy of gastroparesis: current and future perspectives. *Expert Opin Pharmacother.* 2013; 14(9): 1171-86.
41. Sun T, Li D, Hu S, Huang L, Sun H, Yang S, Wu B, Ji F, Zhou D. Aging-dependent decrease in the numbers of enteric neurons, interstitial cells of Cajal and expression of connexin43 in various regions of gastrointestinal tract. *Aging (Albany NY).* 2018; 10:3851-386.
42. Suzuki H, Nishizawa T, Tsugawa H, Mogami S, Hibi T. Roles of oxidative stress in stomach disorders. *J. Clin Biochem Nutr.* 2012; 50(1): 35-39.

43. Strickland L, Letson GD, Muro-Cacho CA. Gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Control*. 2001; 8:252-261.
44. Uranga-Ocio JA, Bastús-Díez S, Palacios DD, García-Cristobal N, Leal-García MA, Albalo-Delgado R. Neuropatía entérica asociada a diabetes mellitus. *Rev Esp Enferm Dig*. 2015; 107(6): 366-373.
45. Ward SM. Interstitial cells of Cajal in enteric neurotransmission. *Gut*. 2000; (Suppl iv) 47:iv40-iv43.
46. Watkins C, Sawa A, Jaffrey S, Blackshaw S, Barrow R, Snyder S, Ferris C. Insulin restores neuronal nitric oxide synthase expression and function that is lost in diabetic gastropathy. *The Journal of Clinical Investigation*. 2000.
47. Yazigi R. Rincones olvidados de la gastroenterología: Las células intersticiales de Cajal. *Gastr. Latinoam*. 2006; 17(1):35-42.